



**You have downloaded a document from  
RE-BUS  
repository of the University of Silesia in Katowice**

**Title:** Chromatografia w badaniu książki zabytkowej

**Author:** Agnieszka Bakalarz

**Citation style:** Bakalarz Agnieszka. (2013). Chromatografia w badaniu książki zabytkowej. Katowice : Wydawnictwo Uniwersytetu Śląskiego



Uznanie autorstwa - Użycie niekomercyjne - Bez utworów zależnych Polska - Licencja ta zezwala na rozpowszechnianie, przedstawianie i wykonywanie utworu jedynie w celach niekomercyjnych oraz pod warunkiem zachowania go w oryginalnej postaci (nie tworzenia utworów zależnych).



UNIwersYTET ŚLĄSKI  
W KATOWICACH



Biblioteka  
Uniwersytetu Śląskiego



Ministerstwo Nauki  
i Szkolnictwa Wyższego

Agnieszka Bakalarz

# Chromatografia w badaniu książki zabytkowej



# Chromatografia

## w badaniu książki zabytkowej



NR 3093

Agnieszka Bakalarz

# Chromatografia w badaniu książki zabytkowej

Wydawnictwo Uniwersytetu Śląskiego



Katowice 2013

Redaktor serii: Nauka o Książce i Bibliotece  
Teresa Wilkoń

Recenzent  
Wiesław Wasiak



## Spis treści

Wprowadzenie . . . . .	7
Technologia wytwarzania i materiałoznawstwo zabytkowego papieru czerpanego . . . . .	9
Naturalne procesy starzenia się zabytkowego papieru czerpanego . . . . .	15
Chromatograficzne techniki analityczne w konserwacji zabytkowego materiału bibliotecznego . . . . .	25
Optymalizacja parametrów analizy chromatograficznej . . . . .	31
Profile kwasów tłuszczowych w papierach zabytkowych . . . . .	47
Mechanizm fizykochemicznych przemian składników papieru zabytkowego . . . . .	59
Konkluzja . . . . .	67
Bibliografia . . . . .	69
Wykaz fotografii, rysunków, tabel, wykresów . . . . .	71
Summary . . . . .	73
Zusammenfassung . . . . .	77





## Wprowadzenie

Każda książka, z dowolnej kolekcji bibliotecznej, posiada indywidualną historię, związaną z okresem i warunkami jej przechowywania. Głównym i podstawowym czynnikiem sprzyjającym niszczeniu książek jest wilgoć. Łątwo wnika ona w papier, przy czym bardzo trudno jest się jej pozbyć, gdyż celuloza w nim zawarta stanowi materiał higroskopijny. Wilgoć sprzyja rozwojowi owadów, których aktywność wegetacyjna wzrasta wraz ze zwiększeniem zawilgocenia papieru. Przede wszystkim jednak wilgoć umożliwia rozwój mikroskopowych grzybów pleśniowych. Ten obszar destrukcji, zwany czynnikiem mikrobiologicznym, jest stosunkowo dobrze zbadany. Należy wspomnieć jeszcze o czynniku fizykochemicznym, którego badania, w przypadku materiału bibliotecznego, dotychczas ograniczone były do pomiaru kwasowości papieru i materiałów pokryciowych, składających się na oprawę. Koreluje z tym ocena zmian wytrzymałości mechanicznej, przede wszystkim papieru.

Konserwatorska ingerencja, której przedmiotem jest zabytkowa książka, wymaga podstawowej wiedzy na temat fizykochemicznej i mechanicznej kondycji materiału, z jakiego książka jest zbudowana. Najczęściej podstawą do podjęcia decyzji o zakresie ingerencji konserwatorskiej jest subiektywna, wizualna ocena stanu zachowania obiektu. Rozwój instrumentalnych technik analitycznych, szczególnie chromatograficznych, stwarza możliwość realizacji badań służących praktyce konserwatorskiej. Badania zabytkowego materiału bibliotecznego nie mogą powodować jego nieodwracalnego zniszczenia. Poabrany materiał, po regeneracji, powinien zostać ponownie włączony do restaurowanego obiektu. Jak się wydaje, takie warunki spełniają techniki chromatograficzne, które z powodzeniem można zaadaptować do badań w zakresie tzw. materiałoznawstwa konserwatorskiego. Prezentowana praca jest próbą wprowadzenia chromatografii do praktyki konserwatorskiej zabytkowego materiału bibliotecznego.



# Technologia wytwarzania i materiałoznawstwo zabytkowego papieru czerpanego

Papier jest podstawowym materiałem piśmienniczym, którego jak dotąd nie zdołały wyprzeć kolejne wynalazki techniczne i technologiczne. W ciągu wieków w procesie wytwarzania papieru systematycznie zachodziły zmiany, które miały na celu poprawę jego jakości, obniżenie ceny i zwiększenie wielkości produkcji. Obecnie, proces produkcyjny w niewielkim stopniu przypomina technologię wytwarzania papieru czerpanego sprzed kilkuset lat. Niestety, jak się okazuje, współcześnie również jakość papieru niczym nie przypomina niezwykle trwałych wyrobów dawnych mistrzów — papierników<sup>1</sup>.

Wprowadzane przez lata zmiany składu chemicznego masy papierowej oraz wykorzystanie nowoczesnych urządzeń do formowania papieru uczyniły z niego produkt tani i powszechnie stosowany, jednak o wyraźnie obniżonej w stosunku do pierwowzoru wytrzymałości. Początek wytwarzania papieru w Europie datuje się na rok 1100. Rzemieślnicy europejscy szybko przejęli chińską technikę wyrobu papieru, starając się zaspokoić rosnące zapotrzebowanie na ten materiał piśmienniczy. Niska jakość produkowanego papieru wymusiła przeprowadzenie radykalnych zmian w procesie technologicznym, co w konsekwencji doprowadziło do opracowania europejskiej techniki wyrobu papieru, odmiennej od stosowanej w dalekowschodniej Azji<sup>2</sup>.

Wprowadzenie nowej technologii przypisuje się papiernikom włoskim z Fabriano, gdzie już w 1296 roku działał młyn papierniczy. Miasto to uznaje się za kolebkę papiernictwa europejskiego. Na podstawie zachowanego doku-

---

<sup>1</sup> H. ROSA: *Charakterystyka papierów w księżkach z XIX i początku XX w.* W: „Notes Konserwatorski”. R. 11. Red. B. DREWNIWSKA-IDZIAK et al. Warszawa 2007, s. 229—254.

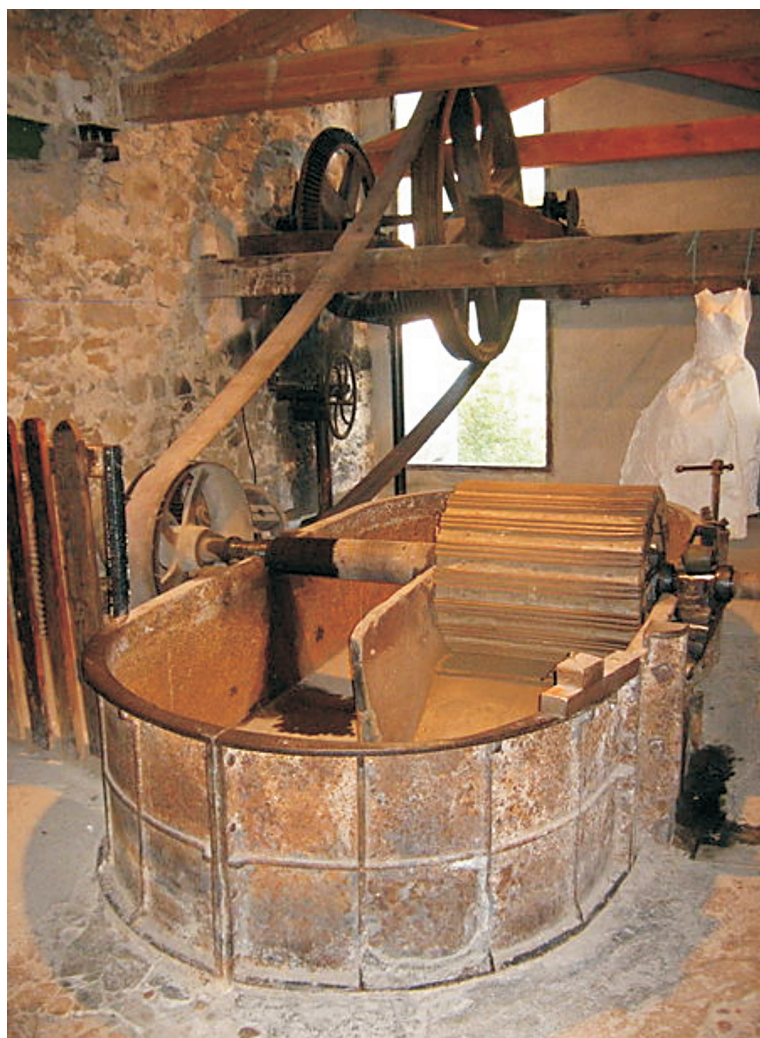
<sup>2</sup> J. ŁOJEWSKA: „*Ageing and Stabilisation of Paper*” pod red. M. Strlič, J. Kolar, *National and University Library, Lublana 2005* [zapowiedź wydawnicza]. W: „Notes Konserwatorski”. R. 11. Red. B. DREWNIWSKA-IDZIAK et al. Warszawa 2007, s. 393—394.

mentu z 1268 roku można domniemywać, że właśnie z Fabriano koło Bolonii pochodzi pierwszy papier wyrabiany według nowej europejskiej technologii. Rozwój sztuki rękodziela papierniczego ściśle wiąże się z upowszechnieniem wynalazku druku. Zbyt papieru był bowiem czynnikiem determinującym powstawanie papierni. Dlatego też budowano je w okolicach miast, gdzie koncentrowała się działalność drukarń, wydawnictw, a także szkół i urzędów. Elementem decydującym w dużym stopniu o lokalizacji papierni był również dostęp do wody, będącej źródłem energii napędzającej stępy oraz surowcem do wyrobu masy papierniczej. Co istotne, jej jakość nie była bez znaczenia. Za najlepszą uchodziła woda miękka, pozbawiona zawartości żelaza. Czasem wykorzystywano nawet wodę z okolicznych źródeł, odznaczającą się pożądanymi cechami. Ostatnim czynnikiem warunkującym funkcjonowanie papierni oraz regulującym wysokość produkcji papieru<sup>3</sup> był dostęp do zużytych szmat lnianych.

Najważniejszą częścią papierni był młyn wodny (fot. 1), na zewnątrz którego obracały się koła wodne. Początkowo stosowano koła podsiębierne, czyli wolne, znajdujące się pod powierzchnią wody. Każde z kół obracało wał pazurowy, który napędzał tylko jedną stępę młotową. Jedno koło napędzało stępę rozwłókniającą szmaty, drugie — stępę mielącą. Więcej energii dostarczało wprowadzone na przełomie XIV i XV wieku koło nasiębierne, znajdujące się pod powierzchnią wody, na które woda spływała od góry, z upustu spiętrzenia. Wymagało ono jednak przebudowy stępy. Koło takie zapewniało ciągłość pracy młyna, niezależnie od poziomu wody w rzece. Pozwalało to na intensywniejszą obróbkę masy włóknistej w stępach lub na uruchamianie dwóch stęp napędzanych przez jedno koło wodne. Procesy rozwłókniania i mielenia, którym poddawano szmaty, przeprowadzano w stępach. Składały się one z poziomych kłód drewna z wydrążonymi otworami — gniazdami, często wyłożonymi metalowymi płytkami, oraz ze stęporów tłuków, czyli ułożonych pionowo belek zakończonych okuciami lub gwoździami, które z dużą siłą i rytmicznie uderzały o dno gniazd, miażdżąc ich zawartość. W gniazdach rozwłókniających szmaty wyodrębnianie włókien nici intensyfikowane było przez stępy z wbitymi gwoździami, natomiast w gniazdach, w których zachodziło mielenie, gładkie powierzchnie stęporów sprzyjały fibrylacji włókien.

Pęcznieniu włókien celulozowych sprzyjało również bezpośrednie dodawanie w procesie mielenia tlenku wapnia. Po zmieleniu i przeniesieniu masy włóknistej do kadzi z wodą, w wyniku rozcieńczenia powstawała zawiesina o zasadowym odczynie, zaś w papierach w niej czerpanych zatrzymywała się pewna ilość wodorotlenku wapnia. Pod wpływem kontaktu z dwutlenkiem węgla zawartym w powietrzu następowało powolne wytrącanie się węglanu

<sup>3</sup> W. SOBUCKI, A. CZAJKA: *Stan zachowania archiwaliów z XIX i XX wieku*. W: *Stan zachowania polskich zbiorów bibliotecznych i archiwalnych z XIX i XX wieku*. Red. B. DREWNIEWSKA-IdZIAK. Warszawa 2006, s. 23—35.



Fot. 1. Urządzenia i narzędzia do produkcji papieru czerpanego (Muzeum Papiernictwa w Dusznikach-Zdroju)

wapnia, co stanowiło skuteczną ochronę przed zakwaszaniem się papieru, nawet podczas długotrwałego przechowywania. Taki sposób przygotowania włókien celulozowych wpłynął na lepszą jakość formowanych arkuszy, co przełożyło się na widoczne rozjaśnienia papieru w miejscach odpowiadających położeniu żeberk w sicie i prostopadłych do nich kresek<sup>4</sup>.

---

<sup>4</sup> J. DĄBROWSKI, J. SINIARSKA-CZAPLIKA: *Rękodzieło papiernicze*. Warszawa 2000, s. 21—29, 119—121.

Końcowe czynności w procesie ręcznego formowania papieru były decydujące dla nadania kierunku uprzywilejowanego ułożenia włókien na arkuszu. Najczęściej był to kierunek równoległy do dłuższego boku sita, zwany kierunkiem wzdłużnym. Arkusz cechujący się takim ułożeniem wykazuje właściwości anizotropowe. Kierunek wzdłużny wpływa również na podniesienie wytrzymałości na zerwanie i zginanie, zwiększenie sztywności oraz chłonności liniowej. Kierunek prostopadły natomiast podnosi wskaźniki oporu przedarcia, rozciągliwości, skurczu w czasie suszenia papieru oraz jego wydłużenia po namoczeniu<sup>5</sup>.

Arkusze papieru przełożone płatami tkaniny — filcu, poddawano prasowaniu za pomocą prasy śrubowej. Otrzymany w ten sposób papier był porowaty, bibulasty i nie nadawał się do pisania. Wymagał zastosowania dodatkowych zabiegów uszlachetniających i wykańczających, między innymi zaklejania i barwienia powierzchniowego. Wysoką odporność na przenikanie i chłonność cieczy przyniosło zaklejanie papieru roztworem naturalnego polimeru pochodzenia zwierzęcego. Towarzyszył temu wzrost wytrzymałości i sztywności papieru, bowiem klej zwierzęcy wykazuje dużą zdolność do wiązania włókien celulozowych<sup>6</sup>.

Jeszcze w połowie XVII stulecia w fazie produkcji papieru czerpanego nie stosowano żadnych wypełniaczy. W latach 1650—1657 w Anglii wprowadzono siarczan glinowo-potasowy, który miał pewne właściwości zaklejające, ale przede wszystkim wytrącał i utrzymywał osad klejowy na włóknach oraz opóźniał rozkład roztworu kleju.

Około roku 1680 w Holandii wynalezione zostało nowe urządzenie miające do rozwłókniania nadgniłych szmat lnianych, zwane holendrem (fot. 2). Składało się ono z obrotowej kładki oraz stęporów zakończonych żelaznymi nożami. Wał pazurowy kolejno unosił trzy stępory, a czwarty, nieruchomy, służył do mieszania zawartości obracającej się kadzi. Dzięki holendrom uzyskiwano około ośmiokrotny wzrost wydajności procesu pełnego mielenia, w porównaniu z jego przebiegiem w stępie mielącej. Z tego względu urządzenie to szybko upowszechniło się w europejskim piapiernictwie, tym bardziej, że bez problemu można było wykorzystać do jego napędu koło wodne. Wynalazek umożliwił znacznie efektywniejsze i staranniejsze przygotowanie masy papierniczej, do której można było wprowadzić różnorakie dodatki. Holender pozwalał na dokładne ich rozprowadzenie, dokonywanie bielenia, barwienia, zaklejania i wypełniania masy włóknistej. Należy wiedzieć, że intensywniejsze oddziaływanie tnące na włókna powodowało znaczne ich skracanie, w zależ-

---

<sup>5</sup> J. DĄBROWSKI: *Kwestia trwałości papierów czerpanych na sposób europejski*. „Świat Druku” 2005, nr 3, s. 66—72.

<sup>6</sup> W. SOBUEKI: *Wybrane problemy ochrony zbiorów bibliotecznych*. W: „Notes Konserwatorski”. Red. B. DREWNIOWSKA-IDZIAK et al. Warszawa 2000, s. 9—17.





Fot. 2. Holender (Muzeum Papiernictwa w Dusznikach-Zdroju)

ności od położenia noży, co sprzyjało formowaniu papieru i względnie łatwemu jego odwodnieniu<sup>7</sup>.

Podane podstawowe informacje z zakresu historii papiernictwa są znane profesjonalnemu konserwatorowi książki zabytkowej. Korzysta z nich przy wyborze do prac konserwatorskich współczesnych substytutów. Coraz większy zakres zniszczeń, cechujących książki zabytkowe, sprawia, że trafność konserwatorskiej decyzji nie może zależeć jedynie od intuicji i praktyki zawodowej. Wymaga wiedzy na temat fizykochemicznej, mechanicznej i mikrobiologicznej kondycji materiałów, z których książki zostały zbudowane, poznania i zrozumienia procesu naturalnego starzenia się papieru, względnie całego zabytkowego materiału bibliotecznego, przebiegającego w obszarze celulozy oraz substancji pomocniczych, stosowanych przez historycznych papierników. Wiedzę na ten temat uzyskać można dzięki wykorzystaniu do rozdziału i identyfikacji tych substancji oraz produktów ich przemian wybranych instrumentalnych technik chromatograficznych, szczególnie wysokosprawnej chromatografii gazowej.

---

<sup>7</sup> N. GURNAGUL: *Model to the Degradation of Papers of Various Origins*. "Journal of Pulp and Paper Science" 2003, vol. 19, s. 139.



## Naturalne procesy starzenia się zabytkowego papieru czerpanego

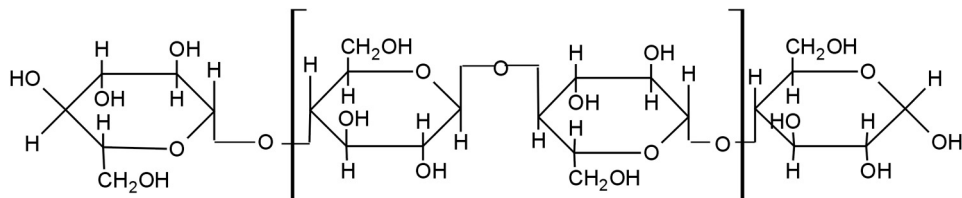
Papier zabytkowy jest wytworem formowanym na sicie z wodnej zawiesiny włókien roślinnych, których dominującym składnikiem jest celuloza. Powstała na sicie z formy czerpanej, a później maszyny papierniczej struktura włóknista, po odprasowaniu i wysuszeniu, przekształca się w papier, który charakteryzuje się budową warstwową. Oznacza to, że każde włókno powinno być rozmieszczone w miarę równoległe do płaszczyzny arkusza lub wstęgi i lokować się na określonym poziomie grubości papieru. Włókno roślinne jest zbudowane z warstw składających się z miniwłókien zwanych makrofibrilami, złożonych z jeszcze drobniejszych elementów włóknistych, zwanych mikrofibrilami. Ostatnią składową są łańcuchy celulozy, które w pewnych obszarach posiadają charakter bezpostaciowy i ułożone są nieregularnie, a w innych równoległe względem siebie, tworząc micelle kryształów, powodujących charakterystyczne dla struktur krystalicznych ugięcie promieniowania rentgenowskiego. Dla wody dostępne są jedynie obszary bezpostaciowe. Jeśli włókno buduje niemal wyłącznie celuloza, co ma miejsce w przypadku zabytkowych papierów czerpanych, to stopień jej krystaliczności koreluje z zawartością wilgoci, oznaczoną w stanie równowagi z powietrzem o określonych parametrach temperatury i wilgotności względnej<sup>8</sup>.

Pojedynczymi ogniwami w łańcuchu celulozy są połączenia wiązaniami  $\beta$ -glikozydowymi. Taki charakter wiązań sprawia, że kolejne ogniwa w łańcuchu są wobec siebie odwrócone. Ich przeciętna liczba w łańcuchu celulozy stanowi średni stopień polimeryzacji celulozy, który można dokładnie ozna-

---

<sup>8</sup> A.B. STRZELCZYK, K. ZYKUBEK: *Ocena zniszczeń mechanicznych, fizykochemicznych i mikrobiologicznych zbiorów z lat 1800–1914 przechowywanych w czterech polskich placówkach bibliotecznych i archiwalnych*. W: „Notes Konserwatorski”. R. 11. Red. B. DREWNIĘSKA-IDZIAK et al. Warszawa 2007, s. 160–180.

czać na drodze pomiaru lepkości celulozy w odpowiednich rozpuszczalnikach. Dla materiałoznawstwa konserwatorskiego istotne znaczenie ma fakt, że celuloza tworzy struktury włókniste i posiada liczne grupy wodorotlenowe ( $\text{—OH}$ ). Ich obecność nadaje celulozie właściwości hydrofilowe, dzięki którym w wodzie ulega ona pęcznieniu. Nie rozpuszcza się w tym środowisku, ponieważ obszary o dużym stopniu uporządkowania krystalicznego są dla niej niedostępne. Krystality celulozy nadają włóknu celulozowemu dużą sztywność, ale są podzielone obszarami bezpostaciowymi, wpływającymi na pewną jego elastyczność, zwłaszcza w obecności wilgoci. Ta unikalna kombinacja budowy włókna celulozowego i jego hydrofilowość, której oddziaływanie na włókno jest jednak ograniczone, sprawiają, że celuloza stanowi podstawowy materiał dla działalności współczesnych papierników, tworzących struktury, w których włókna roślinne są ściśle ze sobą związane bez obecności spoiwa, na tej samej zasadzie, na jakiej fibryle są wzajemnie powiązane w włóknie<sup>9</sup>. Dla ilustracji przedstawiam wzór łańcucha celulozy o stopniu polimeryzacji  $2 + 2n$ :



Dla złożonej struktury chemicznej papieru czułym indykátorem zmian zachodzących w wyniku jego starzenia się są wskaźniki wytrzymałości dynamicznej. Zaliczają się do nich: gramatura, grubość, ciężar objętościowy, samorozerwalność i podwójne zginanie w kierunku podłużnym i poprzecznym. Na właściwości strukturalne, wymiarowe, optyczne i mechaniczne papieru wpływają naturalne procesy fizykochemiczne, związane z jego starzeniem się. W przypadku zabytkowego papieru czerpanego, o zmianie tych parametrów decydują również czynniki o charakterze mikrobiologicznym.

Fizykochemiczne pomiary papieru zwyczajowo ograniczają się do oznaczania jego kwasowości. Powinny one jednak objąć także identyfikację składu chemicznego papieru, różnych czynników środowiskowych oraz reakcji, które zachodzą w procesie jego naturalnego starzenia się. Przy rozpatrywaniu roli składu chemicznego papieru trzeba uwzględnić zmiany poziomu koncentracji aldehydów, ketonów, grup karboksylowych, ilości hemicelulozy i stopnia jej polimeryzacji, krystaliczności celulozy, kwasów wprowadzonych do papieru w toku jego produkcji, a także różnych środków pomocniczych.

<sup>9</sup> A.A. ROBERTSON: *Specific Surface of Cellulose Fibers by the Liquid Permeability Method*. "Pulp and Paper Magazin of Canada" 1999, vol. 65, s. 171.

Analiza rengenograficzna celulozy wykazała, że zbudowana jest ona z łańcuchów, złożonych z jednostek celobiozowych, w których atomy tlenu z pierścieni ułożone są na przemian w pozycji z przodu i z tyłu. Te liniowe cząsteczki, zawierające kilka tysięcy jednostek glikozowych, tworzą fibryle połączone wiązaniami wodorowymi pomiędzy grupami hydroksylowymi sąsiednich łańcuchów. Włókna celulozowe składające się z fibryli owiniętych spiralnie wokół osi centralnej charakteryzuje znaczna wytrzymałość mechaniczna oraz elastyczność<sup>10</sup>.

Obecność jonów wodorowych ( $H^+$ ) katalizuje hydrolizę celulozy. W efekcie skraca się średnia długość łańcucha celulozy, co przekłada się na jego wytrzymałość mechaniczną. Ponadto na dwóch końcach zerwanego łańcucha polimeru znajdują się reaktywne ugrupowania, które łatwo przyłączają się do sąsiedniego łańcucha celulozy, degradując go. Powoduje to wzrost sztywności papieru, który staje się łamliwy. Hydroliza jest procesem nieodwracalnym, usieczienie celulozy natomiast jest częściowo odwracalne.

Do czynników środowiskowych, wpływających na omawiany proces, należą: tlen, ozon, wilgoć, smog, światło i ciepło oraz inne zanieczyszczenia. Z reakcji chemicznych należy wymienić hydrolizę, utlenianie, zmiany w wiązańach poprzecznych, zmiany w rzędzie krystaliczności, wynikające z różnic wilgoci w papierze, fotolizę, fotosensybilizację oraz fotoooksydację, czyli utlenianie pod wpływem działania światła<sup>11</sup>.

Analiza reakcji zachodzących podczas hydrolizy celulozy jest bardziej złożona, ponieważ cząsteczki celulozy mogą wykazywać w włóknach zmienny stopień krystaliczności. W procesie utleniania celulozy wymagana jest obecność środka utleniającego. Tlen z powietrza może reagować z celulozą jedynie w środowisku silnie zasadowym lub w wysokiej temperaturze. Rozkład celulozy pod wpływem światła zachodzi przy oddziaływaniu fal elektromagnetycznych o długości 300–400 nm. Sama celuloza nie absorbuje takiego promieniowania. Musi ono zostać zaabsorbowane przez inne komponenty papieru — fotosensybilizatory. Zalicza się do nich zanieczyszczenia występujące w papierze, takie jak lignina i jony żelazowe oraz niektóre materiały pomocnicze dodawane do masy papierowej. W historycznym papierze czerpanym fotosensybilizatorami są zanieczyszczenia pochodzące z substancji klejowych, w papierze współczesnym — zanieczyszczenia towarzyszące substancjom wybielającym<sup>12</sup>.

---

<sup>10</sup> D. DUTKA: *Degradacja papieru i celulozy tematem sympozjum Europejskiego Stowarzyszenia Badań Materiałowych*. „Przegląd Papierniczy” 2001, nr 12 (688), s. 751.

<sup>11</sup> T. ŁOJEWSKI, T. SAWOSZCZUK, J.M. ŁAGAN, K. ZIĘBA, A. BARAŃSKI, J. ŁOJEWSKA: *Furfural as a Marker of Cellulose Degradation*. “Applied Physics A: Materials Science & Processing” 2010, vol. 100 (3), s. 873—884.

<sup>12</sup> P. MIŚKOWIEC, J. ŁOJEWSKA, H. LUBAŃSKA, L.M. PRONIEWICZ: *Badania spektroskopowe mechanizmów degradacji papieru*. W: *Na pograniczu chemii i biologii*. T. 13. Red. H. KORONIAK,

W dawnym rękodziele papierniczym produkcja włókien celulozowych przebiegała w środowisku zasadowym. Nagromadzone w włóknach celulozowych jony wapnia, reagując z dwutlenkiem węgla z powietrza, wytwarzały w strukturze papieru drobiny węglanu wapnia, który dość skutecznie chronił jego powierzchnię przed współczesnymi kwaśnymi zanieczyszczeniami z otoczenia. Wydaje się, że formowanie papieru w środowisku zasadowym, tak charakterystyczne dla historycznego europejskiego papiernictwa, jest istotnym czynnikiem decydującym o trwałości wyrabianego wówczas papieru.

Nieznany konserwatorowi zagadnieniem jest wpływ zawartych w papierze substancji pomocniczych na mechanizm i kinetykę procesu starzenia się tego materiału. Stąd zainteresowanie substancjami klejącymi, stosowanymi w technologii wytwarzania historycznego papieru drukowego. Proces naturalnego starzenia się papieru jest związany z degradacją łańcucha celulozowego, czemu sprzyja kwaśne środowisko. Degradacja substancji klejących nie była dotychczas w tym procesie uwzględniana. Brakuje również wiedzy na temat synergistycznych oddziaływań obydwu procesów. Klej do zaklejania papieru był pochodzenia zwierzęcego. Podstawowym składnikiem tej grupy klejów naturalnych jest substancja białkowa zwana glutyną, będąca produktem częściowej hydrolizy kolagenu. Sam kolagen natomiast jest białkiem prostym, należącym do grupy skleroprotein. Badania rentgenowskie wykazały, że kolagen zbudowany jest z długich, spiralnych łańcuchów peptydowych. Klej ten w zimnej wodzie pęcznieje i już przy jednoprocetowej jego zawartości tworzy galaretę, która po ogrzaniu do temperatury powyżej 40°C rozpuszcza się, dając lepki roztwór klejący<sup>13</sup>.

Praca z zabytkowym materiałem bibliotecznym wymaga starannego wyboru techniki analitycznej, która powinna spełniać kilka podstawowych warunków. Przede wszystkim realizowane badania nie powinny nawet w najmniejszym stopniu wiązać się z koniecznością zniszczenia fragmentu materiału. Jeśli jednak zachodzi taka konieczność, do analizy winna wystarczyć mikrogramowa wielkość próbki, co odpowiada mikrometrowej powierzchni badanego materiału. Przykładem takich działań są prace konserwatorskie na materiale pergaminowym z przed trzech tysięcy lat. Celem wykonanych na tym obiekcie badań była identyfikacja pigmentów zawartych w atramencie, użytym do zapisu tekstu i dekoracji. Z uwagi na wielkość przeznaczoną do badań próbki, wykluczona została technika spektroskopii absorpcji atomowej (AAS). W badaniach zastosowana została technika EDS (*Energy Dispersive Spectroscopy*), sprzężona z mikroskopem elektronowym z możliwością skanowania obrazu

---

J. BARCISZEWSKI. Poznań 2005, s. 55—62; C. FELLERS, T. IVERSEN, T. LINDSTROM, T. NILSSON, M. RIGDANL: *Ageing. Degradation of Paper. A Literature Survey*. Stockholm 1999, s. 14.

<sup>13</sup> H. MATUSSEK: *Can Regulations Induce Environmental Innovations. An Analysis of the Role of Regulations in the Pulp and Paper Industry in Selected Industrialized Countries*. "Annual Reviews" 1996, vol. 38, s. 22.

SEM (*Scanning Electron Microscopy*). Technika EDS dostarczyła informacji na temat składu chemicznego próbki, analizowanej pod względem obecności takich pierwiastków, jak: ołów, miedź, cynk, żelazo, magnez, arsen, krzem, chlor, siarka, i metali lekkich. Technika mikroskopii elektronowej pozwoliła na precyzyjne wyznaczenie miejsca poboru próbek z powierzchni obiektu<sup>14</sup>.

Do rejestracji przemian zachodzących w zabytkowym papierze oraz obserwacji jego morfologii wykorzystywana jest skaningowa mikroskopia elektronowa, metody fluorescencji rentgenowskiej stosowane są do analizy jakościowej i określenia składu pierwiastkowego badanego obszaru rękopisu, mikrosonda elektronowa umożliwia natomiast identyfikację rozmieszczenia wybranych pierwiastków na obszarze przy granicy zapisanego znaku graficznego<sup>15</sup>.

Najstarsze europejskie papiery drukowe były w wysokim stopniu powierzchniowo przeklejane. Zawartość substancji klejącej w stosunku do całej masy celulozowej nierzadko dochodziła nawet do 30%. Prymitywne sposoby wytwarzania klejów zwierzęcych nie zapewniały im jednorodności. Obecne w ich składzie, obok pożądanego kolagenu, substancje lipidowe były naturalnym czynnikiem emulgującym, wpływającym korzystnie na równomierność zaklejania powierzchni papieru. W historycznej perspektywie czasowej substancje lipidowe i zachodzące z ich udziałem przemiany chemiczne, są odpowiedzialne za niekorzystne zmiany we właściwościach papieru. Możliwości wykorzystania technik chromatograficznych do identyfikacji oraz ilościowej interpretacji tych zmian są bezdyskusyjne.

Właściwości zabytkowego materiału bibliotecznego, a w przypadku papieru jego wysoce rozbudowana powierzchnia, sprawiają, że dotyczące ich zagrożenia mikrobiologiczne traktować można jako naturalny czynnik, wpływający na mechanizm i kinetykę procesów starzenia się. Główną i podstawową przyczyną niszczenia się książek zabytkowych jest wilgoć. Niekontrolowane skoki temperatury powodują natomiast gwałtowne zmiany wilgotności względnej powietrza bibliotecznego. Przy obniżeniu temperatury może dochodzić do skraplania się wody na chłodnych powierzchniach książek.

Mówiąc o zbiorach zabytkowych, można stwierdzić, że w historycznym przedziale czasowym opisane zjawiska zachodziły wielokrotnie. Na zawilgoce nie najbardziej wrażliwe są brzegi książek, grzbiety i okładki. Wilgoć wnika w papier i niezwykle opornie uchodzi, bowiem celuloza w nim zawarta jest materiałem silnie higroskopijnym. Zamknięcie książek wskutek oddziaływania znacznej ilości wody, powoduje rozległe zniszczenia wywołane rozpulchnieniem się klejów w oprawach, skutkuje odstawaniem okładek, przemieszcza-

---

<sup>14</sup> B. WAGNER, E. BULSKA: *Zastosowanie nowoczesnych metod instrumentalnych w badaniach zabytków rękopiśmiennych*. W: „Notes Konserwatorski”. R. 5. Red. B. DREWNIWSKA-IDZIAK et al. Warszawa 2001, s. 68–77.

<sup>15</sup> E. BULSKA, B. WAGNER: *Ratujemy zabytkowe rękopisy, czyli badanie procesów degradacji celulozy*. „Analityka” 2000, nr 2, s. 12–15.



niem się barwników z opraw do wnętrza, odbiciem ilustracji na sąsiadujących stronach i pleśnieniem. Wilgoć umożliwia rozwój grzybów mikroskopowych, zwanych pleśniami. Te, które wegetują na papierze, na oprawach skórzanych, pergaminowych i płóciennych, cechują się przystosowaniem i zdolnością do rozkładu materiałów budujących książki<sup>16</sup>.

Pleśnie to mikroskopowych rozmiarów grzyby, składające się z grzybni zdolnej do rozrastania się w kolonie. Grzybnia w kolonii tworzy system rozgałęzionych rurek kapilarnych, dzięki którym możliwe jest transportowanie wody i dlatego niełatwo zamiera. Odżywia się składnikami papieru, klejów i innych materiałów, z których zbudowana jest książka. Grzybnia wydziela enzymy, które przenikając do podłoża, rozkładają je. Ponieważ enzymy są stale wydzielane przez kolonię na zewnątrz, podłoże ulega zniszczeniu, sięgającemu znacznie poza granicę rozwoju kolonii. Papier w miejscu obecności kolonii grzyba oraz w sąsiedztwie jest cienki, kruchy, porowaty, w skrajnym przypadku rozpada się i kurczy. Opisana destrukcja mikrobiologiczna jest nie tylko efektem działania enzymów trawiących podłoże, ale także kwasów będących produktami przemiany materii samych grzybów pleśniowych.

Kolonie grzybów pleśniowych rozwijają się z zarodników licznie występujących w powietrzu, kurzu i zabrudzeniach powierzchni. Są one zdolne do kiełkowania nawet w warunkach niewielkiej ilości wilgoci. Jeśli jest ona wystarczająca, wówczas tworzy się kolonia zdolna do wytworzenia dość szybko znacznej liczby zarodników. Te zaś, wokół kolonii macierzystej zapoczątkowują kolejne pokolenia. Ilość powstających zarodników jest niepoliczalna. Zarodniki grzybów cechują się określonymi kolorami, a dzięki swojej ogromnej koncentracji są dostrzegalne na powierzchni papieru. Można zatem dostrzec rozległe kolonie o zarodnikach barwy białej, kremowej, buraczkowej, fioletowej, zielonej, oliwkowej, pomarańczowej, szarej, czarnej i innych. Niekiedy można określić rodzaj grzyba, biorąc pod uwagę kolor jego zarodników. Papier będący miejscem siedliska kolonii oraz najbliższe otoczenie siedliska są bardzo zniszczone. W opisanym procesie dużą rolę odgrywają grzyby z rodzaju sadzakowatych<sup>17</sup>.

Jeśli zasób wilgoci w papierze jest zbyt niski i nie pozwala na normalny rozwój i zarodnikowanie kolonii, kolonia nie zamiera, a jedynie zwalnia swoją aktywność wegetacyjną. Przenika powoli przez podłoże, stopniowo rozkłada je i nie tworzy nowych zarodników. Starzejąc się, wytwarza produkty prze-

---

<sup>16</sup> A.B. STRZELCZYK, J. KARBOWSKA: *The Role of Microorganisms in the Decay of Parchment*. "Acta Microbiologica" 2000, vol. 43, s. 165—174.

<sup>17</sup> A.B. STRZELCZYK, J. KUROCZKIN, W.E. KRUMBEIN: *Observations on Aesthetic and Structural Changes Induced in Polish Historic Objects by Microorganisms*. "International Biodegradation" 1999, vol. 23, s. 67; A.B. STRZELCZYK, J. KUROCZKIN, W.E. KRUMBEIN: *Studies on the Microbial Degradation of Ancient Leather Bookbindings*. "International Biodegradation" 2000, vol. 25, s. 39.

miany materii, wśród których istotną rolę, oprócz wspomnianych enzymów i kwasów, odgrywają zawarte w grzybni barwniki. Tworzą one na podłożu papierowym, a nawet na pergaminie, trudne do usunięcia plamy, ponieważ strzępki grzybów wrastają do lumenu włókien celulozowych i trawia je od środka. W ingerencji konserwatorskiej do barwnika można dotrzeć jedynie przez ściankę włókna i ściankę komórkową grzybni.

Kolonie grzybów znajdują w książkach optymalne warunki rozwoju również ze względu na obecność klejów roślinnych i zwierzęcych. Miejscem sprzyjającym tworzeniu kolonii są wewnętrzne strony okładki przy wykleykach. Drobnoustroje wrastają w zawilgocone miejsca na taką głębokość, na jakiej wystarcza im tlenu do procesów oddechowych. Postępujący rozkład papieru wiąże się z tworzeniem się szparek, co umożliwia wnikanie tlenu do wnętrza, a także obsychanie zawilgoconej powierzchni. Dochodzi wówczas do spowolnienia rozkładu mikrobiologicznego papieru. Powstaje zaciek i obsychająca książka ulega deformacji. Powstałe w bloku książki kolonie często tworzą ciała przetrwalnikowe, tzw. sklerocja, które gromadzą się wewnątrz plam i mogą powodować sklejenie nawet kilkanastu stronic. Ponadto, z sklerocjów w korzystnych warunkach nieomal natychmiast może wykształcić się nowa, żywa kolonia<sup>18</sup>.

Zarodniki kolonii pleśni w granicach zacieku mogą wegetować nawet przez kilka lat. W każdej chwili wilgoć jest w stanie wzbudzić ich aktywność. Również powierzchnie opraw łatwo mogą stać się miejscem rozwoju drobnoustrojów. Najczęściej zdarza się to w sytuacji przeniesienia wilgotnych książek do suchych i ciepłych pomieszczeń. Wówczas odparowująca z wnętrza wilgoć powoduje zawilgocenie powierzchni okładek i zasiedlenie ich przez grzyby pleśniowe i promieniowce. Te ostatnie najczęściej bytują w miejscach mniej wilgotnych, gdzie pleśnie nie mogą się rozwijać. Promieniowce rozkładają skórę i pergamin, ale znaleźć je można również na papierze, tekturze, klejach i oprawach tekturowych. Zauważalne są w postaci białego, szarego lub kremowego drobno pylistego nalotu, przylegającego do powierzchni<sup>19</sup>.

Opisane zniszczenia bloków książek, brzegów i wnętrza dotyczą przede wszystkim obiektów wykonanych z papierów z mas długowłóknistych, ręcznie czerpanych. Papiery te składają się z wysokogatunkowej celulozy lnianej, konopnej lub bawełnianej i zaklejone są najczęściej klejem zwierzęcym. Odznaczają się bardzo wysoką wrażliwością na rozkład pod wpływem drobn-

---

<sup>18</sup> A. BARAŃSKI, P. BEGIN, J.M. ŁAGAN, T. ŁOJEWSKI, T. SAWOSZCZUK: *Application of Zou, Uesaka and Gurnagul Model to the Degradation of Papers of Various Origins*. "Journal of Pulp and Paper Science" 2006, vol. 32, s. 238—244.

<sup>19</sup> J. ŁOJEWSKA, A. LUBAŃSKA, T. ŁOJEWSKI, P. MIŚKOWIEC, L.M. PRONIEWICZ: *Kinetic Approach to Degradation of Paper. In Situ FTIR Transmission Studies on Hydrolysis and Oxidation*. "e-Preservation Science" 2005, vol. 2, s. 1—11; A.B. STRZELCZYK, J. KARBOWSKA: *Mikrobiologiczny rozkład zabytkowych pergaminów*. „Postępy Mikrobiologii” 2003, vol. 32, s. 19.

ustrojów, ale jednocześnie wolno się starzeją i wykazują odporność na kwaśne zanieczyszczenia powietrza.

W drugiej połowie XIX wieku ograniczenia surowcowe w produkcji papieru przełamano dzięki wprowadzeniu mas włóknistych wytwarzanych z drewna. Upowszechnił się również zwyczaj dodawania białych pigmentów jako wypełniaczy do zawiesiny, przed formowaniem z niej papieru. Zatrzymując się w strukturze papieru skutecznie poprawiały jego nieprzezroczystość, stateczność wymiarową i gładkość. Jako wypełniacz stosowany bywa kaolin. Wprowadzenie mineralnych wypełniaczy zasadowych w rodzaju zmielonej kredy, wapienia i marmuru wymaga formowania papieru w środowisku bezkwasowym. W przeciwnym wypadku następuje rozkład tych pigmentów z wydzieleniem dwutlenku węgla.

Wypełniacze podnoszą białość oraz nieprzezroczystość papieru, zmniejszając powierzchnię wiązań między włóknami i powodując automatyczny wzrost udziału powierzchni niezwiązanej, decydującej o rozpraszaniu światła. Białość papieru determinują dwa czynniki: obecność substancji barwnych, pochłaniających światło, oraz zdolność struktury papieru do rozpraszania światła. W przypadku papierów białych, w których zawartość substancji barwnych jest bardzo niska, o ich białości decyduje drugi z czynników. Stopień białości jest tym niższy, im bardziej zwarta jest struktura papieru.

Z początkiem XX wieku rozwinęła się produkcja papierów drukowych powlekanych mieszankami pigmentowo-klejowymi. Charakteryzują się one znacznie lepszą drukowalnością. W historycznym rękodziele papierniczym nie stosowano wypełniania ani powlekania papieru. Co więcej, papier formowano na sicie w środowisku zasadowym, dzięki obecności w włóknach jonów wapniowych, reagujących z dwutlenkiem węgla zawartym w powietrzu. Wytrącanie się węglanu wapnia w strukturze papieru było najważniejszym czynnikiem, wpływającym na trwałość wyrabianego wówczas papieru.

Współczesne papiery drukowe w zdecydowanej większości produkowane są w środowisku kwaśnym. Wynika to z technologii zaklejania papieru w masie klejem kalafoniowym i jego modyfikacjami. Stopień zaklejania papieru odpowiada jego wodoodporności. Z tych względów nadal stosowane jest zaklejanie w masie klejem żywicznym, szczególnie w produkcji papierów drukowych i do pisania. Decyduje o tym niski koszt i skuteczność tej technologii. Każdy proces zaklejania w masie wpływa na pogorszenie wytrzymałości papieru. Nie jest ono tak silne w przypadku zaklejania papieru w środowisku zasadowym. Wówczas zaklejanie sprzyja pęcznieniu włókien celulozowych, co niweluje niekorzystny wpływ na wytrzymałość mechaniczną papieru, która determinowana jest przede wszystkim jakością masy włóknistej oraz stopniem jej zmielenia.

Właściwości zabytkowego papieru czerpanego, jego odczyn i wytrzymałość, charakteryzujące go bezpośrednio po wyprodukowaniu, mają jednak de-

cydujący wpływ na dalsze jego zachowanie w czasie. W żadnym wypadku nie można dokonywać jakichkolwiek porównań o charakterze fizykochemicznym czy mechanicznym pomiędzy historycznym i współczesnym papierem drukowym. Technologicznie i materiałowo są to dwa różne wytwory, które łączy tylko wspólna nazwa — papier.



## Chromatograficzne techniki analityczne w konserwacji zabytkowego materiału bibliotecznego

Wszystkie reakcje chemiczne, w których bierze udział celuloza, główny składnik papieru, zachodzą z udziałem reszt glikozowych tego polisacharydu. Depolimeryzacja celulozy oraz dalszy jej rozkład następuje przede wszystkim wskutek hydrolizy, utleniania lub enzymatycznego działania mikroorganizmów. Przebieg hydrolizy jest procesem złożonym i zachodzi stopniowo: od celulozy do końcowego produktu, czyli glikozy. Proces utleniania natomiast prowadzi do przemiany grup hydroksylowych w celulozie na grupy aldehydowe, ketonowe i karboksylowe. W przypadku jonów metali, przykładowo pochodzących z farby drukarskiej, tuszu lub atramentu, obydwa procesy mogą zachodzić równocześnie. Jony wodorowe katalizują hydrolizę, a jony metali — autooksydację. Ze względu na wskazane procesy można mówić o nieodwracalnej destrukcji celulozy z papieru, katalizowanej w środowisku kwaśnym. Hydroliza oraz utlenianie powodują utratę wytrzymałości mechanicznej papieru, a tym samym bezpowrotne niszczenie obiektów rękopiśmiennych i drukowanych.

Nadal niezbadane pozostają oddziaływania składników zawartych w substancjach pomocniczych papieru na mechanizm i kinetykę jego starzenia się. Stąd zainteresowanie substancjami klejącymi, stosowanymi w technologii wytwarzania historycznego papieru drukowego. Degradacja substancji klejących, towarzysząca starzeniu się papieru, nie była dotychczas uwzględniana. Brakuje również wiedzy na temat synergistycznych oddziaływań obydwu procesów.

Zastosowanie wybranych technik chromatograficznych do oznaczania naturalnych składników zawartych w klejach z zabytkowych materiałów bibliotecznych i produktów ich przemian, jako kolejnego elementu naturalnego procesu starzenia się papieru, powinno pozwolić na opracowanie podstaw mechanizmu procesu starzenia i jego wpływu na strukturalne i mechaniczne

parametry zabytkowego materiału bibliotecznego. Wiedza ta ułatwi podjęcie decyzji o zakresie ingerencji konserwatorskiej i doborze właściwych materiałów lub neutralnych współczesnych substytutów.

Metody chromatograficzne zostały prawdopodobnie po raz pierwszy zastosowane przez Davida Talbota Daya pod koniec XIX wieku do rozdzielu węglowodorów z ropy naftowej. W tym samym czasie na Uniwersytecie Warszawskim rosyjski chemik i biolog Michaił Cwiet rozdzielił barwniki z zielonych liści na kolumnie wypełnionej kredą. Ponieważ Cwiet rozpoznał i prawidłowo zinterpretował proces rozdzielu, jest on powszechnie uważany za wynalazcę tej techniki. Jest również autorem terminu chromatografia, którego użył ze względu na barwne strefy obserwowane na kredowej kolumnie podczas rozdzielu (gr. *chromatos* 'barwa' + *grapho* 'pisze').

W każdej technice chromatograficznej najpierw rozdziela się badaną mieszaninę, a później przeprowadza się detekcję rozdzielonych składników. Rozdział substancji następuje w wyniku przepuszczenia roztworu badanej mieszaniny przez specjalnie spreparowaną fazę rozdzielczą, zwaną fazą stacjonarną. Wykazuje ona zdolności sorpcyjne lub inne oddziaływujące na substancje przepływające. Podczas przepływu eluentu, czyli fazy ruchomej, przez fazę rozdzielczą zachodzi proces wymywania zaadsorbowanych lub związanych substancji. Siła oddziaływania tego procesu jest różna dla poszczególnych składników mieszaniny. Niektóre składniki są zatrzymywane w fazie dłużej, inne krócej, dzięki czemu może następować ich rozdział. Czas przebywania danego składnika w kolumnie określany jest terminem czasu retencji.

W zależności od rodzaju eluentu, czyli substancji, w której rozpuszcza się badaną mieszaninę, rozróżnia się następujące techniki chromatograficzne:

- chromatografię cieczową, w której eluentem jest ciekły rozpuszczalnik lub mieszanina rozpuszczalników,
- chromatografię gazową, w której eluentem jest gaz (zwykle hel, argon lub wodór, czasem azot),
- chromatografię nadkrytyczną, w której eluentem jest gaz w stanie nadkrytycznym.

Wysokosprawna chromatografia cieczowa — HPLC (ang. *High Performance Liquid Chromatography*) — to technika analityczna oraz preparatywna, stosowana do oczyszczania, badania czystości oraz identyfikacji związków chemicznych. Jest rodzajem cieczowej chromatografii kolumnowej, co oznacza, że analizowana próbka jest rozpuszczana w odpowiednio dobranym rozpuszczalniku, zależnym od właściwości substancji i zastosowanego układu rozwijającego. Rolę fazy ruchomej pełni odpowiednio dobrana mieszanina, czyli eluent. Na skutek oddziaływań międzycząsteczkowych, między związkami chemicznymi będącymi składnikami analizowanej próbki a wypełnieniem kolumny następuje rozdział.



HPLC wyróżnia ciśnienie, pod jakim podawany jest na kolumnę eluent. Zwykle ciśnienie jest znaczne, przekraczające 100 atm. Wysokie ciśnienie w układzie HPLC wynika z kapilarnej budowy pomp, uziarnienia wypełnienia kolumn o średnicy kilku mikrometrów i przepływu fazy ruchomej. Drobne uziarnienie złoża fazy stacjonarnej skutkuje korzystniejszymi parametrami sprawności i rozdzielczości układu, dzięki czemu rozdział analizowanych mieszanin na poszczególne związki chemiczne uzyskuje się w krótkim czasie, przy niewielkim zużyciu eluentu i znikomej ilości analizowanej próbki. Zdolności rozdzielcze współczesnych aparatów i kolumn HPLC są niekiedy porównywalne do zdolności rozdzielczych chromatografii gazowej.

W HPLC duże znaczenie dla rozdziału ma polarność faz. Początkowo stosowano normalny układ faz (NP), w którym faza stacjonarna jest znacznie bardziej polarna niż faza ruchoma (np. układ: żel krzemionkowy — heksan). Obecnie najczęściej stosuje się odwrócony układ faz (RP), w którym faza stacjonarna jest mniej polarna niż faza ruchoma (np. układ: żel krzemionkowy z chemicznie modyfikowaną powierzchnią — mieszanina metanolu, acetonitrylu, wody czy specjalnie dobranych buforów itp.). Podział zależy od wiązania się hydrofobowych cząsteczek substancji rozpuszczonej z fazy ruchomej do unieruchomionych, hydrofobowych ligandów związanych z fazą stacjonarną. Siła i charakter oddziaływania między cząsteczkami próbki i fazą stacjonarną zależy zarówno od oddziaływań hydrofobowych, jak i oddziaływań polarnych. Substancje rozpuszczone są wymywane w kolejności rosnącej molekularnej hydrofobowości.

Aparaty HPLC zawierają: zbiornik na elenty, bufony, odpowiednie roztwory płuczące itp., automatyczny odgazowywacz, który usuwa gazy rozpuszczone w eluentach, zawory proporcjonujące, w których faza ruchoma osiąga zadany skład. Układ z zaworami proporcjonującymi zazwyczaj umożliwia mieszanie większej ilości roztworów. Alternatywne rozwiązanie, czyli układ wysokociśnieniowy pozwala natomiast na znacznie szybszą zmianę składu eluentu. Wprowadzenie próbek na kolumnę bez rozszczelniania układu umożliwia dozownik, którym najczęściej jest zautomatyzowany podajnik — autosampler. Można również wymienić kolumnę z wypełnieniem, termostatowaną do 80°C, detektor, którym może być przepływowy spektrometr UV-VIS lub spektrofotometr fluorescencyjny.

W typowym, analitycznym aparacie HPLC analiza jednej próbki trwa od kilku do kilkudziesięciu minut. Kolumny HPLC mają przeciętnie długość 3—25 cm i przekrój wewnętrzny rzędu kilku milimetrów. Czasem mogą być zestawiane w układy o określonej zdolności rozdzielczej. W czasie jednej analizy zużywa się od kilku do kilkudziesięciu mililitrów eluentu. Jako eluent stosuje się rozmaite rozpuszczalniki organiczne. Analizowana próbka ma zwykle objętość 1—200 µl.

Chromatografia gazowa (GLC) to technika analityczna oparta na rozdziale składników badanej mieszaniny pomiędzy poruszającym się strumieniem gazu nośnego (faza ruchoma) a wypełnieniem kolumny (faza stacjonarna). Siłą napędową migrującej substancji jest poruszająca się faza ruchoma, a siłą przytrzymującą — powinowactwo substancji do fazy stacjonarnej. Całkowity czas, w jakim substancja pozostaje w kolumnie, jest jej czasem retencji ( $t_{Ri}$ ). Oddziaływanie związków z fazą stacjonarną, które decyduje o czasie retencji, zależy od struktury cząsteczkowej, szczególnie od rodzaju i liczby obecnych grup funkcyjnych, jak również od geometrii cząsteczek. Próbkę wprowadza się do dozownika strzykawką. W ogrzewanym do temperatury 200—400°C dozowniku dochodzi do odparowania składników próbki. Gaz nośny, płynący ze stałym natężeniem przepływu, przenosi pary badanej substancji z dozownika i transportuje je przez kolumnę do detektora. Poszczególne składniki badanej mieszaniny przenoszone są przez kolumnę z różnymi szybkościami, zależnie od ich współoddziaływania z wypełnieniem kolumny. Każdy składnik, który opuści kolumnę, trafia do detektora, wytwarzającego wtedy sygnał elektryczny wykreślany na chromatogramie.

Analizowane związki muszą charakteryzować się wystarczającą trwałością termiczną i odpowiednią lotnością. Jeżeli w temperaturze 400°C znajdują się one w fazie gazowej i nie ulegają rozkładowi, to prawdopodobnie mogą być analizowane metodą chromatografii gazowej. Czas retencji w danych warunkach jest różny dla każdego składnika analizowanej mieszaniny. Pozwala to na dość dokładną identyfikację składnika przez porównanie ze znaną, czystą substancją. Wynik identyfikacji przeprowadzonej w ten sposób należy traktować bardzo ostrożnie, gdyż może się zdarzyć, że istnieje także inna substancja o takim samym czasie retencji. Pewniejszy rezultat można otrzymać, poddając próbkę analizie z użyciem kilku różnych kolumn, o różnych właściwościach fazy stacjonarnej. Największą pewność co do składnika pozwala uzyskać łączenie chromatografii gazowej z innymi technikami analitycznymi, najczęściej ze spektrometrią mas (GC-MS).

Chromatograf gazowy składa się z następujących podstawowych elementów: układu dozowania próbki, termostatowanego pieca, kolumny chromatograficznej, detektora i rejestratora.

Tradycyjny układ nastrzykowy składa się zwykle z membrany, którą nakłuwa się igłą specjalnej strzykawki chromatograficznej, oraz odparownika, w którym następuje odparowanie wszystkich składników analizowanej próbki. Odparownik otoczony jest spiralą grzejną, która umożliwia rozgrzanie rurki do ponad 300°C. Nastrzyki wykonuje się ręcznie lub automatycznie. Ręczny nastrzyk można wykonać za pomocą specjalnej strzykawki, a automatyczne nastrzyki z użyciem autodozownika. Najważniejszą częścią układu nastrzykowego jest miejsce, do którego trafia próbka po pobraniu jej przez autodozownik lub strzykawkę. Wyróżnia się następujące układy nastrzykowe: dozownik

typu *split*, w którym nastrzyknięta próbka trafia do specjalnego rozdzielacza, gdzie tylko ściśle ustalona część nastrzyku jest kierowana do odparowalnika, reszta zaś trafia do tzw. martwej pętli. System ten gwarantuje, że do kolumny dostaje się zawsze powtarzalna ilość próbki. W przypadku dozownika typu *on-column*, cała próbka trafia od razu na kolumnę. Aby uzyskać dobry rozdział mieszaniny, powinno się dozować jak najmniejsze ilości próbek. Dozownik *split* umożliwia pomniejszenie ładunku przez ustawienie dużych stosunków podziału. Dozownik *on-column* stosuje się zwykle w sytuacji, gdy badana próbka jest niestabilna termicznie, przez co mogłaby ulec rozkładowi w temperaturze dozownika typu *split*. Aby pomniejszyć ilość zadozowanej próbki, bardzo mocno się ją rozcieńcza.

Z układem dozującym współpracuje piec z kolumną chromatograficzną. Piec w chromatografii gazowej jest odizolowany od otoczenia, wysokowydajny grzejnik z bardzo dokładną kontrolą temperatury. Wewnątrz pieca umieszczona jest zwinięta w pętlę kolumna. Piec, aby zapewnić możliwość szybkiej zmiany temperatury, posiadają zwykle wymuszony obieg powietrza. Większość współczesnych chromatografów daje możliwość liniowej zmiany temperatury w czasie pomiaru. Pozwala to na wykonywanie analiz w tzw. gradiencie, co zwykle ją przyspiesza.

Współczesne chromatografy gazowe pracują z kolumnami kapilarnymi — zwojami o długości do 50—60 m i średnicy wewnętrznej rzędu 0,32 mm i mniejszej. Wykonywane są z metali lub stopionej krzemionki. Wypełnia się je roztworami polimerów lub innych nielotnych substancji ciekłych o wysokiej lepkości i polarności zależnej od rodzaju związków, które mają być rozdzielane. Roztwory te, po odparowaniu, pozostawiają na ściankach kolumny cienki film, który w warunkach analizy jest bardzo lepką cieczą. Rozdzielanie analizowanych substancji odbywa się w nich na granicy faz: gaz — ciecz. Najczęściej stosowanymi polimerami w tego rodzaju kolumnach są modyfikowane chemicznie polisiloksany lub modyfikowane chemicznie polietylenoglikole o wysokiej masie cząsteczkowej.

Detektor w chromatografii gazowej mierzy stężenie wpływających z kolumny związków w gazie nośnym. Idealny detektor powinien reagować jedynie na samo stężenie, niezależnie od struktury chemicznej analizowanego związku. W praktyce jednak detektory wykazują różną czułość na odmienne związki chemiczne, co wymaga ich kalibrowania i ustalania tzw. współczynników odpowiedzi dla każdego związku chemicznego osobno, jeśli chce się dokładnie określić procentowe udziały związków chemicznych w analizowanej próbce. Z licznej grupy detektorów stosowanych w chromatografii gazowej na szczególną uwagę zasługują: detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID) oraz detektor masowy (MS). Pierwszy z wymienionych jest jednym z najczęściej stosowanych detektorów w chromatografii gazowej. Jego działanie polega na jonizacji cząsteczek w płomieniu oraz rejestracji zmian energii jonizacji. Pod-

stawowym elementem tego detektora jest kwarcowy palnik wodorowy, którego płomień otacza elektroda zbiorcza. Gdy przez detektor przepływa gaz nośny, między elektrodą zbiorczą i elektrodą polaryzującą panuje stała energia jonizacji, rejestrowana przez elektrometr i rejestrator jako linia podstawowa. W momencie, gdy do detektora dociera oznaczana substancja organiczna, ulega ona spaleni, a powstające jony powodują wzrost energii (natężenia prądu między elektrodami). Ta zmiana jest rejestrowana jako sygnał pomiarowy. FID jest jednym z najczulszych detektorów uniwersalnych. Wykrywa niemal wszystkie związki organiczne, przy czym wielkość sygnału jest zależna od liczby cząsteczek analizowanego związku w płomieniu i od liczby atomów węgla w jego cząsteczkach. Detektor masowy natomiast jest specyficznym rodzajem spektrometru masowego. Nie pozwala na dokładny pomiar stężeń związków w mieszaninie, ale umożliwia jednoczesną identyfikację chemicznej struktury tych związków.

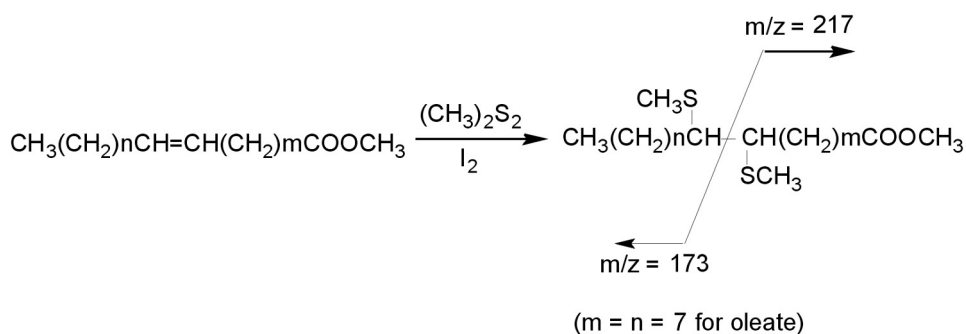
## Optymalizacja parametrów analizy chromatograficznej

Kwasy tłuszczowe analizowane są najczęściej w formie estrów metylo-  
wych, które posiadają wiele zalet. Są stosunkowo lotne, niepolarne i dają  
ostre, dobrze wykształcone piki. W sprzężeniu ze spektrometrem masowym  
możliwa staje się ocena ich masy cząsteczkowej oraz stopień nienasylenia  
reszt acylowych. Widma masowe estrów nie dostarczają wielu informacji o ich  
strukturze, przykładowo o umiejscowieniu układów nienasyconych. Miejsce  
lokalizacji ładunku jest ta strona cząsteczki, po której znajduje się grupa kar-  
boksyłowa. Podczas jonizacji w strumieniu elektronów możliwe staje się prze-  
mieszczanie podwójnego wiązania, wówczas widma masowe dwóch struktur  
izomerycznych bywają nierozróżnialne. Derywatywacja wiązania podwójnego  
daje jednak bardziej czytelne widma.

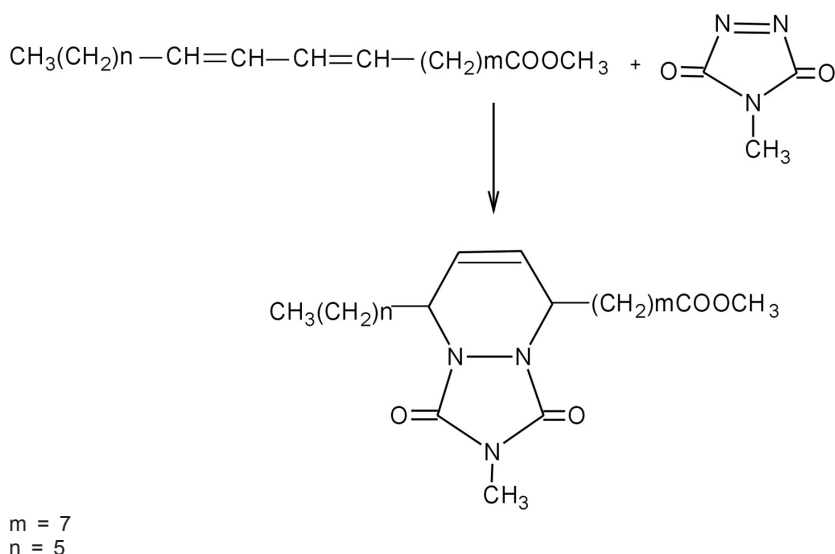
Istnieją dwie możliwości ustalenia położenia podwójnego wiązania meto-  
dą GC-MS. Jedna z nich polega na przygotowaniu odpowiedniej pochodnej,  
zawierającej działający stabilizujący azot, co pozwala prześledzić drogę jej  
fragmentacji. Druga, szczególnie przydatna w przypadku mononienasyconych  
kwasów tłuszczowych, polega na usztywnieniu podwójnego wiązania taką po-  
chodną, która w spektrometrze masowym ulega zróżnicowanej fragmentacji.  
Pochodne o takich właściwościach otrzymać można przez derywatyzację po-  
dwójnego wiązania disiarczkiem dimetylu.

Derywatywacja podwójnego wiązania disiarczkiem dimetylu jest jedną  
z najprostszych metod, pozwalających na ustalenie jego położenia. Reakcja  
jest jednoetapowa, a pochodne posiadają doskonałe właściwości chromatogra-  
ficzne i dostarczają czytelnych widm masowych<sup>20</sup>.

<sup>20</sup> A. BARAŃSKI, J.M. ŁAGAN, T. ŁOJEWSKI: *The Concept of Mixed-Control Mechanisms and its Applicability to Paper Degradation*. In: *Durability of Paper and Writing*. Ed. J. KOLAR et al. Ljubljana 2004, s. 35–36; M. van ROLLINS, V.A. VAN DER NOOT: *Targeted Quantitative*



Reakcja nienasyconego kwasu tłuszczowego z MTAD przedstawia się następująco:



Estry metylowe kwasów tłuszczowych rozdzielano na kolumnach kapilarnych, stosując chromatograf gazowy z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (FID) oraz detektorem masowym (MS). Detektor masowy był wyposażony w źródło jonów typu IE, o maksymalnej energii jonizacji rzędu 70 eV. Pracował w trybie zbierania pełnego widma *full scan*, monitorując masy w przedziale 50—480 j.m.a.

Zastosowano kolumny kapilarne typu *fused silica* z chemicznie związanymi fazami o średniej polarności, mające wymiary 25 m × 0,32 lub 0,20 mm × 0,33 lub 0,52 μm film. Ponadto na etapie przygotowania próby używano następującego sprzętu:

*Analysis of Eicosanoid Lipids in Biological Samples Using Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry*. "Analytical Biochemistry" 2003, vol. 313, s. 106.

- łaźni ultradźwiękowej,
- wagi analitycznej,
- zestawu do ekstrakcji do fazy stałej SPE z kolumnami *Bakerbond spe* C—18,
- mikrostrzykawkę 5  $\mu$ l i 10  $\mu$ l typu *Hamilton Syringes*.

W pracach nad optymalizacją warunków analizy chromatograficznej oraz do identyfikacji i obliczeń ilościowych stosowano wzorce estrów metylowych nasyconych i nienasyconych kwasów tłuszczowych od C—10 do C—24, a także wybranych kwasów dikarboksylowych. Wykorzystane w pracy rozpuszczalniki cechowały się czystością chromatograficzną. Ponadto posłużono się metanolemowym roztworem katalizatora, zastosowanym w transestryfikacji triglicerydów do estrów metylowych. Do optymalizacji rozdziałów oraz ustalenia danych retencyjnych użyto detektora płomieniowo-jonizacyjnego oraz mieszanin wzorcowych jakościowych i ilościowych, zawierających następujące sekwencje estrów kwasów monokarboksylowych:

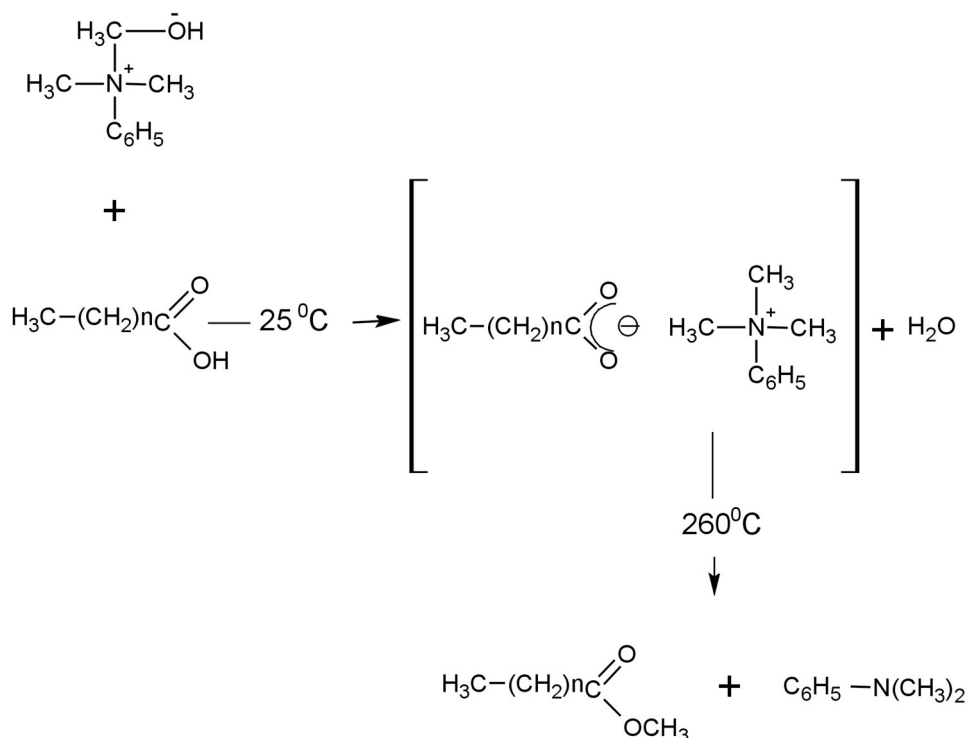
- dla mieszaniny wzorcowej (1) : od C—8 : 0 do C—18 : 0
- dla mieszaniny wzorcowej (2) : od C—16 : 0 do C—24 : 0
- dla mieszaniny wzorcowej (3) : od C—12 : 1 do C—24 : 1
- dla mieszaniny wzorcowej (4) : C—18 : 0 + C—18 : 1 + C—18 : 2 + C—18 : 3.

Optymalizację warunków transestryfikacji w obecności katalizatora metanolemowego roztworu wodorotlenku fenylotrimetyloamoniowego (TMAH) wykonano, wykorzystując olej słonecznikowy. Jednocześnie rozdzielone w ten sposób estry metylowe kwasów tłuszczowych uzupełniły dane retencyjne uzyskane w analizie roztworów wzorcowych. Optymalizacja warunków reakcji, przy założeniu stałej temperatury odparownika, obejmowała określenie stosunku objętościowego ekstraktu heksanowego badanej próbki, w tym wypadku oleju słonecznikowego i czynnika metylującego. Wykonano ją dla detektora płomieniowo-jonizacyjnego. Koncentracja oleju w heksanie była na poziomie oczekiwanych wartości ekstrahowanych z papieru substancji lipidowych. Warto przyjrzeć się mechanizmowi pirolitycznej estryfikacji kwasów tłuszczowych w obecności metanolemowego roztworu wodorotlenku fenylotrimetyloamoniowego (mechanizm przedstawiono na s. 34).

Optymalizację parametrów pracy spektrometru przeprowadzono dla standardowych pików masowych  $m/z$  69, 219 i 502, wykorzystując perfluorotributyloaminę (PFTBA). Do chromatograficznego rozdziału, w przypadku stosowania detektora FID, korzystano z kolumny kapilarnej o wymiarach: 25 m  $\times$  0,32 mm  $\times$  0,52  $\mu$ m film. Dla detektora MS średnica wewnętrzna kolumny wynosiła 0,20 mm, a grubość filmu 0,33  $\mu$ m.

Analizę kwasów tłuszczowych z trójglicerydów prowadzono w systemie dozowania próbki typu *splitless*. Temperatura odparownika wynosiła 260°C, a detektora FID — 280°C. Program temperaturowy pracy kolumny był typowy

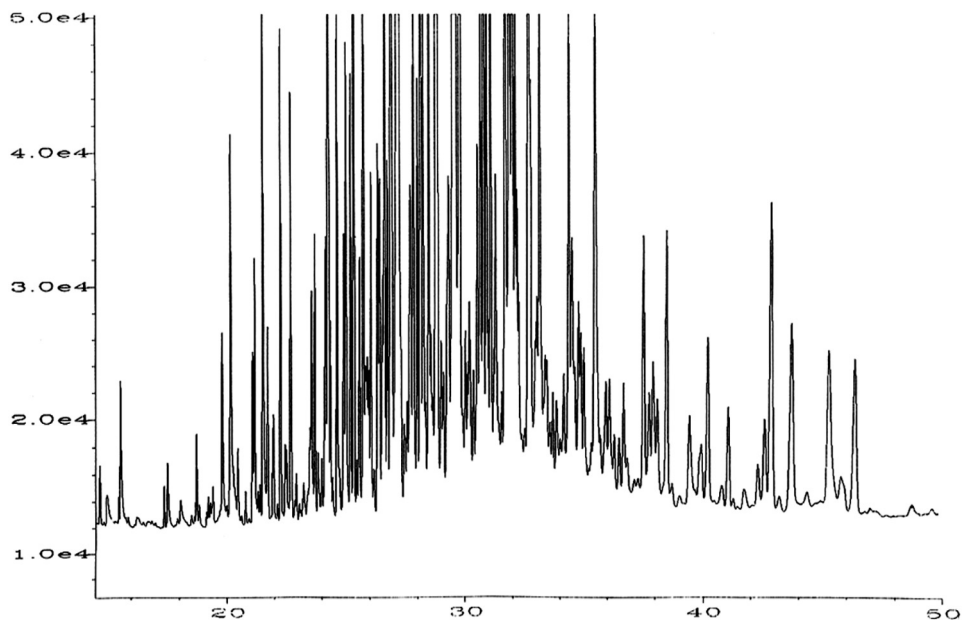




dla systemu dozowania próbki rodzaju *split/splitless*. Temperatura początkowa przez pierwsze dwie minuty wynosiła  $60^\circ\text{C}$ , później nastąpił jej programowany wzrost do  $280^\circ\text{C}$ , dla przyrostu  $8^\circ\text{C}/\text{min}$ . Granica oznaczalności kwasów tłuszczowych w systemie GC-MS wynosiła 0,1—0,3 ng danego składnika, w warunkach dozowania *splitless* i temperatury linii transferu próbki rzędu  $300^\circ\text{C}$ .

Proces ekstrakcji lipidów zawartych w zabytkowych papierach do fazy ciekłej przeprowadzono w łaźni ultradźwiękowej. Problemem była nie tyle efektywność, ile selektywność ekstrakcji. W obszarze zainteresowań naukowych znalazły się przede wszystkim mono- di- i triglicerydy, dobrze rozpuszczalne w heksanie. Dlatego też *n*-heksan był czynnikiem ekstrahującym lipidy do fazy ciekłej.

Analiza chromatograficzna surowego ekstraktu heksanowego ujawniła obecność ponad dwustu substancji, występujących nie tylko na poziomie wykrywalności, lecz także oznaczalności. Na tej podstawie można stwierdzić, że do frakcji heksanowej przechodzą również fosfolipidy, estry sterolowe kwasów tłuszczowych, same alkohole sterolowe, a także wyższe alkan, na ogół dobrze rozpuszczalne w acetonie. Surowy ekstrakt nie posiadał praktycznej wartości analitycznej, co wymusiło konieczność dodatkowego jego przygotowania do analizy chromatograficznej.



Rys. 1. Chromatograficzny rozdział składników z surowego ekstraktu heksanowego papieru inkunabułowego (Norymberga 1479)

Próbki papieru ekstrahowano w 100 cm<sup>3</sup> heksanu na łaźni ultradźwiękowej przez 45 min. Do izolacji i zagęszczenia ekstraktów zastosowano technikę ekstrakcji do fazy stałej *Solid Phase Extraction* — SPE. W technice tej surowy ekstrakt przeprowadza się przez mikrokolumnę wypełnioną sorbentem, osadzonym na nośniku. Zatrzymane na sorbencie substancje są następnie wymywane niewielką objętością rozpuszczalnika. W tej procedurze mamy do czynienia z oddziaływaniami pomiędzy:

- rozpuszczalnikiem lub fazą ciekłą matrycy a izolowanymi składnikami,
- rozpuszczalnikiem lub fazą ciekłą matrycy a sorbentem,
- wydzielanymi składnikami i sorbentem.

Równie istotny jest etap wymywania z kolumny, w którym zachodzą kolejne oddziaływania pomiędzy:

- sorbentem a izolowanymi substancjami,
- sorbentem a czynnikiem wymywającym,
- izolowanymi składnikami a czynnikiem wymywającym.

Metoda ekstrakcji do fazy stałej pozwala na eksperymentalny wybór sorbentu oraz eluentu, w zależności od chemicznych własności zagęszczanych i izolowanych substancji, poziomu ich koncentracji i składu jakościowego. W przypadku sorbentu kryterium wyboru opiera się na skali polarności. Niepolarne fazy stacjonarne to takie, w których żel krzemionkowy modyfikowany jest przez układy oktaacylowe, oktylowe, cykloheksylowe i fenyłowe. Cha-

rakteryzują się podziałowym mechanizmem rozdziału, a sam żel krzemionkowy spełnia funkcję mechanicznego nośnika. Dla takiego materiału rozdzielczego niepolarny heksan jest silnym środkiem eluującym, a metanol, izopropanol i woda to rozpuszczalniki mniejszej mocy.

Stacjonarne fazy polarne to żele krzemionkowe, dodatkowo modyfikowane grupami cyjanowymi, diolowymi i aminowymi, a także trójtlenek glinu i florisil. W tym przypadku mechanizm rozdziału jest w dużej mierze oparty na procesie adsorpcji. Technika SPE wykorzystuje również stacjonarne fazy polarne o właściwościach wymieniaczy jonowych.

Do oczyszczania i zagęszczania kwasów tłuszczowych techniką SPE użyto faz stacjonarnych, modyfikowanych grupami aminopropylowymi. Pozwalały one na zatrzymanie na kolumnie fosfolipidów<sup>21</sup>, przy zastosowaniu chloroformu jako eluentu. Estry sterolowe, glicerydy i alkohole sterolowe eluować można z kolumny także heksanem, modyfikowanym eterem dietylowym. W tych warunkach jako pierwsze eluacji ulegają estry sterolowe<sup>22</sup>.

Zdecydowano się na selektywną izolację substancji tłuszczowych z surowego ekstraktu techniką SPE w układzie ciecz — faza stała, którą był żel krzemionkowy, modyfikowany chemicznie wspomnianymi grupami niepolarnymi, szczególnie oktadecylowymi. Podziałowy mechanizm rozdziału został w tym przypadku oparty na technice odwróconej fazy. Badania koncentrowały się na problemie maksymalizacji odzysku substancji tłuszczowych z fazy stacjonarnej, po uprzednim usunięciu innych substancji interferujących. Glicerydy mieszczą się w tym samym przedziale polarności w stosunku do zastosowanej fazy stałej. Ewentualne różnice zmieniają się liniowo z zależności od liczebności grup metylenowych w łańcuchu, a także liczebności podwójnych wiązań i ich położenia. W praktyce heksanowy ekstrakt z zabytkowego papieru zagęszczano na wyparce próżniowej do objętości 10 cm<sup>3</sup>, a następnie w atmosferze helu do 1 cm<sup>3</sup>. Ekstrakt rozcieńczano izopropanolem do objętości 20 cm<sup>3</sup>, a następnie wodą demineralizowaną do takiej objętości, aby w konsekwencji uzyskać proporcję alkoholu do wody jak 20 : 80.

Przygotowanie kolumnienek C—18 do ekstrakcji fazą stałą (SPE) polega przede wszystkim na ich kondycjonowaniu. W tym celu kolumnienki były

---

<sup>21</sup> S. URAN, A. LARSEN: *Analysis of Phospholipid Species in Human Blood Using Normal-phase Liquid Chromatography Coupled with Electrospray Ionization Ion-trap Tandem Mass Spectrometry*. "Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications" 2001, vol. 758, s. 265—275; Y. KIKAWA, A. NAKAI: *Prenatal Diagnosis for Organic Acid Disorders Using Two Mass Spectrometric Methods, Gas Chromatography, Mass Spectrometry and Tandem Mass Spectrometry*. "Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications" 2002, vol. 532, s. 387—393.

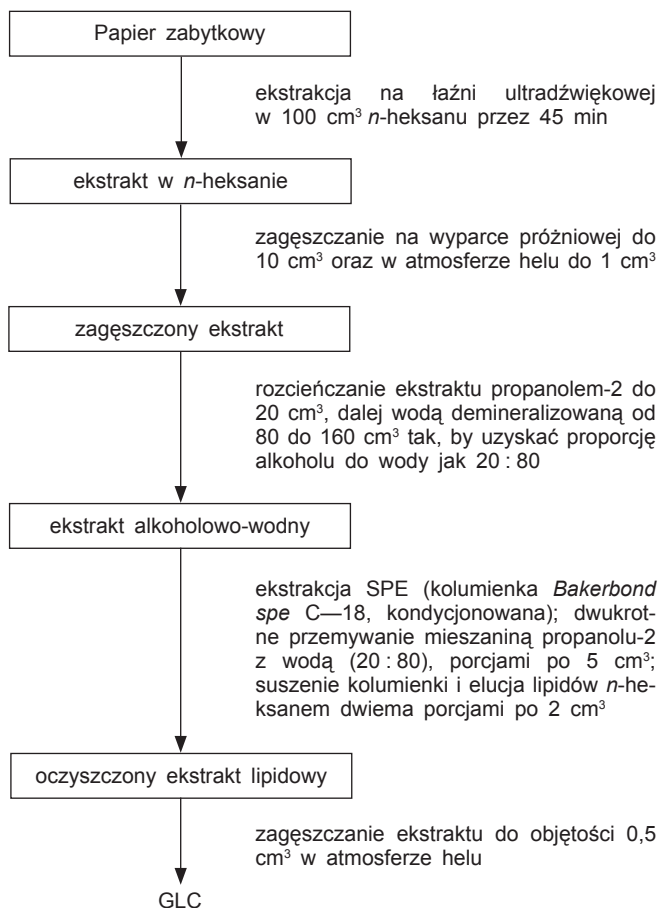
<sup>22</sup> D.J. HARVEY: *Mass Spectrometry of Picolinyl and Other Nitrogen-containing Derivatives of Lipid*. "Advances in Lipid Methodology" 1992, vol. 25, s. 19—80; A. BARAŃSKI, D. DUTKA, R. DZIEMBAJ, A. KONIECZNA-MOLENDA, J.M. ŁAGAN: *Effect of Relative Humidity on the Degradation Rate of Cellulose. The Methodology Studies*. „Restaurator” 2004, nr 25, s. 68—74.

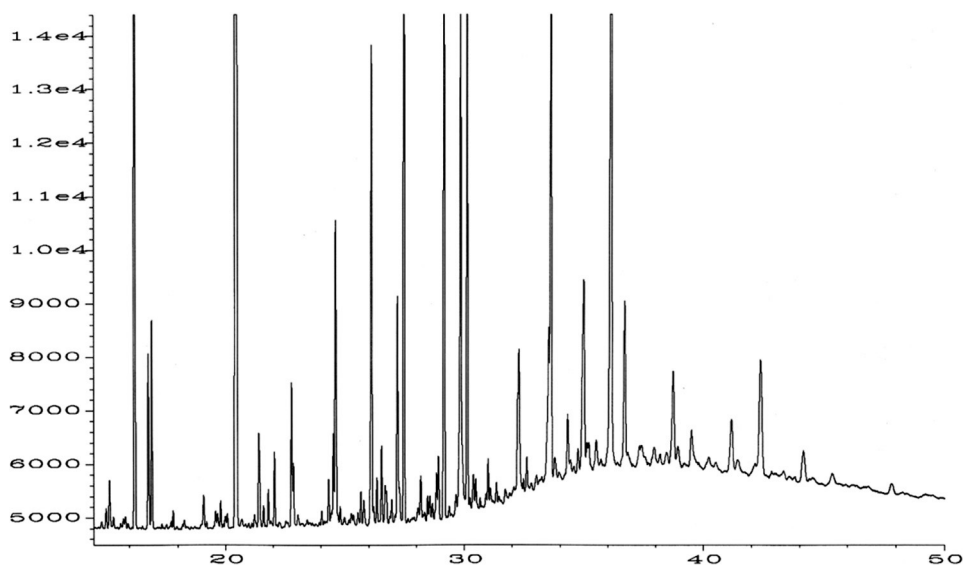
przemywane dwukrotnie mieszaniną izopropanolu z wodą w stosunku objętościowym 20 : 80. Przy obydwu zabiegach zwracano uwagę na to, aby nie dopuścić do wysuszenia kondycjonowanych kolumnienek.

Bezpośrednio przed ekstrakcją na kolumnienki wprowadzano po 5 cm<sup>3</sup> mieszaniny izopropanolu z wodą (20 : 80), przesączając ją bez użycia próżni. Zadbano, aby w kolumnienkach nie było widocznych banieczek powietrza. W dalszej kolejności na szczyt kolumny wprowadzano badany ekstrakt i sączono przy użyciu próżni, z wydajnością 4—6 cm<sup>3</sup>/min.

Po przesączeniu całej próbki kolumnienka była przemywana mieszaniną izopropanolu z wodą (20 : 80) w jednej objętości kolumnienki, a następnie suszona do dwóch godzin w warunkach podciśnienia. Po wykonaniu tych operacji mono-, di- oraz triglicerydy, a także niższe kwasy mono- i dikarboksyłowe oraz ich formy estrowe, były eluowane z kolumnienek przez dwukrotne przemywanie heksanem, porcjami po 2 cm<sup>3</sup>.

Proces ekstrakcji do fazy stałej SPE można przedstawić następująco:





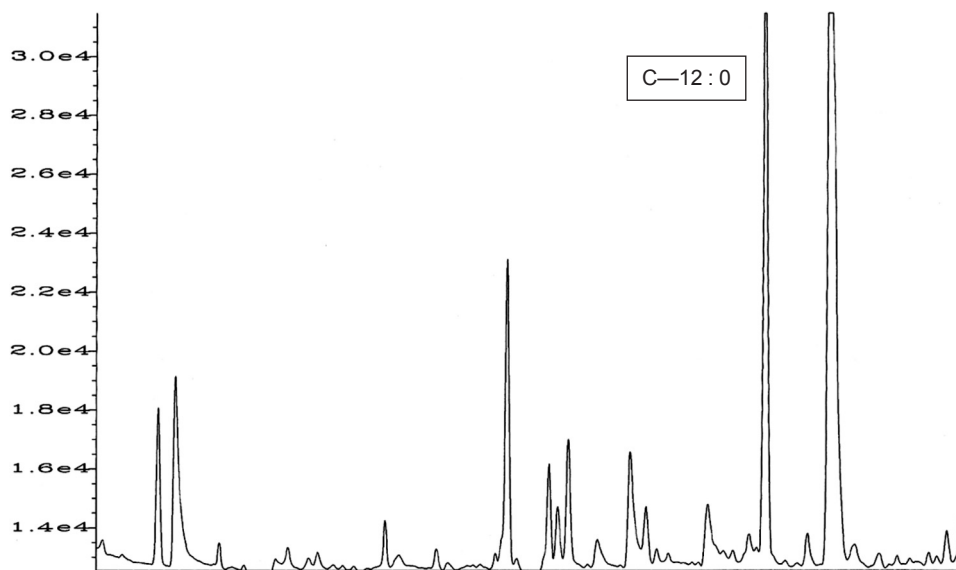
Rys. 2. Chromatograficzny rozdział składników z ekstraktu heksanowego papieru inkunabulo-  
wego po oczyszczeniu techniką SPE

Analizę identyfikacyjną prowadzono przez porównanie czasów retencji substancji wykrywanych i wzorcowych oraz widm masowych, uzyskanych dla wzorców i analizowanych składników danego ekstraktu. W widmach masowych ustalano położenie jonów molekularnych oraz charakterystycznych dla danego estru jonów fragmentacyjnych. W przypadku braku substancji wzorcowych, posługowano się biblioteką widm masowych lub katalogowym piśmiennictwem widm masowych. Najczęściej interpretację widm masowych ograniczano do procedury, zgodnie z którą, po stwierdzeniu obecności jonów molekularnych, poddawano charakteryzacji także jony fragmentaryczne, przypisując je do odpowiednich pochodnych lipidowych.

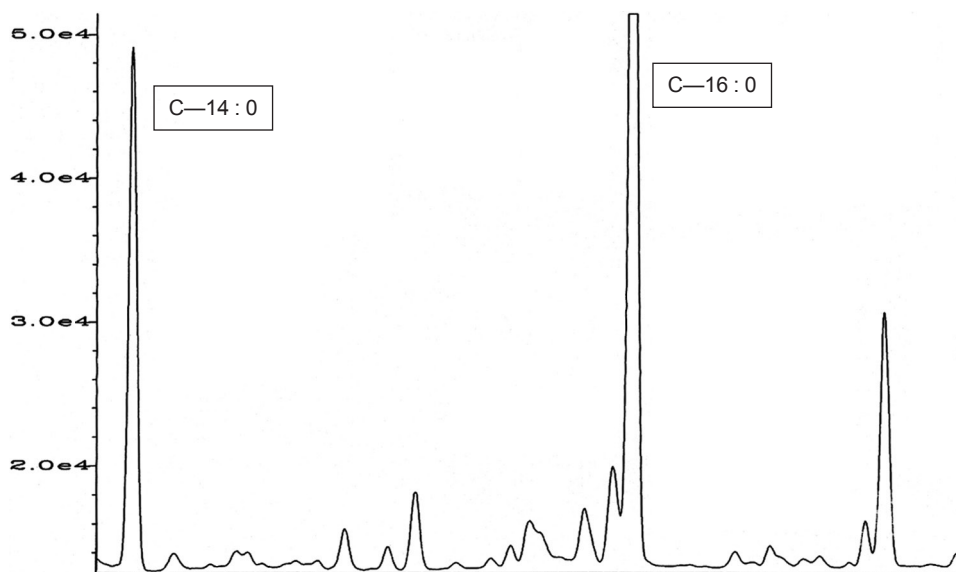
Wykorzystywane w analizie identyfikacyjnej chromatograficzne dane retencyjne pozyskiwano nie tylko przez rozdział składników z roztworów wzorcowych. W tym celu analizowano także naturalne produkty tłuszczowe, w tym olej słonecznikowy. Dla określonej odważki tego oleju wykonano optymalizację stężenia katalizatora transestryfikacji, a także potwierdzono sekwencję danych retencyjnych dla estrów metylowych kwasu stearynowego i jego pochodnych nienasyconych. Stwierdzono, że w przypadku stosowania 0,5 M metanolowego roztworu wodorotlenku trimetylofenyloamoniowego (TMAH), wprowadzenie do analizy mieszaniny ekstraktu z papieru i katalizatora w stosunku objętościowym 1 : 1 stanowi wystarczający nadmiar katalizatora, zapewniający przeprowadzenie transestryfikacji z ilościową wydajnością.

Dla kwasów dikarboksylowych oraz innych produktów naturalnych przemian substancji lipidowych w zabytkowych papierach, w tym kwasów tłuszcz-

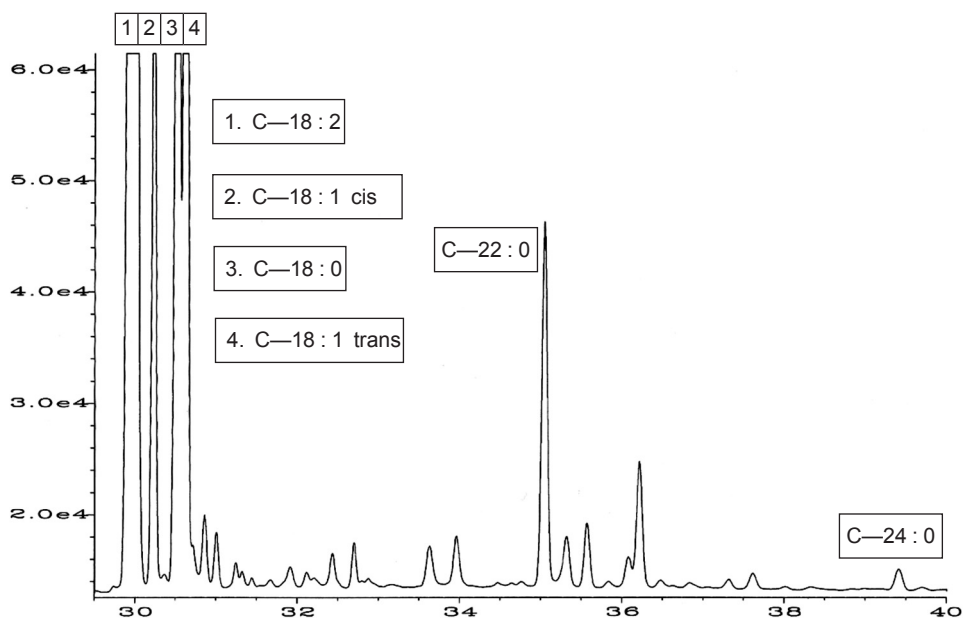
czowych o nieparzystej liczbie atomów węgla, korzystano z informacji, jakie dostarczają fragmentacje widm masowych oraz biblioteki tych widm. Po ustaleniu danych retencyjnych dla kwasów tłuszczowych od C—10 do C—24, możliwe staje się określenie przedziałów czasów retencji, w których można się spodziewać pików kwasów tłuszczowych nieobjętych wzorcowaniem.



Rys. 3. Chromatograficzny rozdział składników z oleju słonecznikowego (15—24 min)

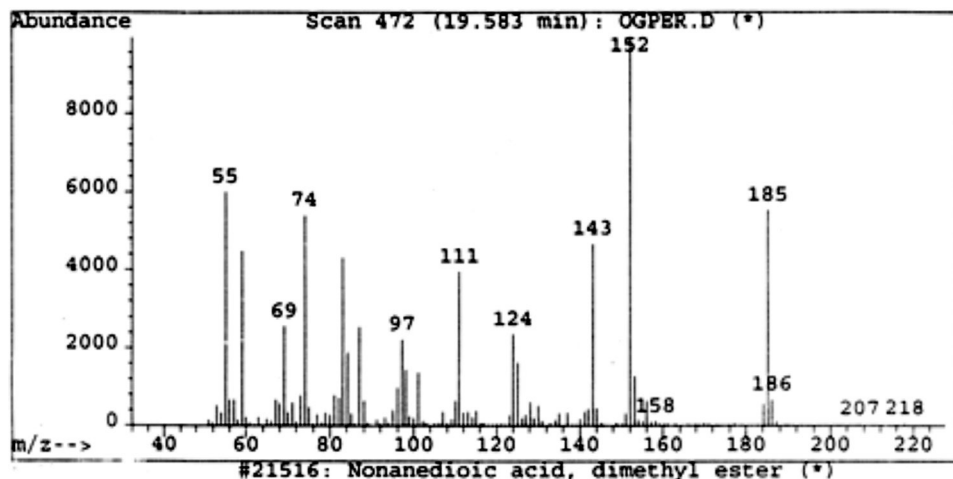


Rys. 4. Chromatograficzny rozdział składników z oleju słonecznikowego (24—29 min)



Rys. 5. Chromatograficzny rozdział składników z oleju słonecznikowego (29—40 min)

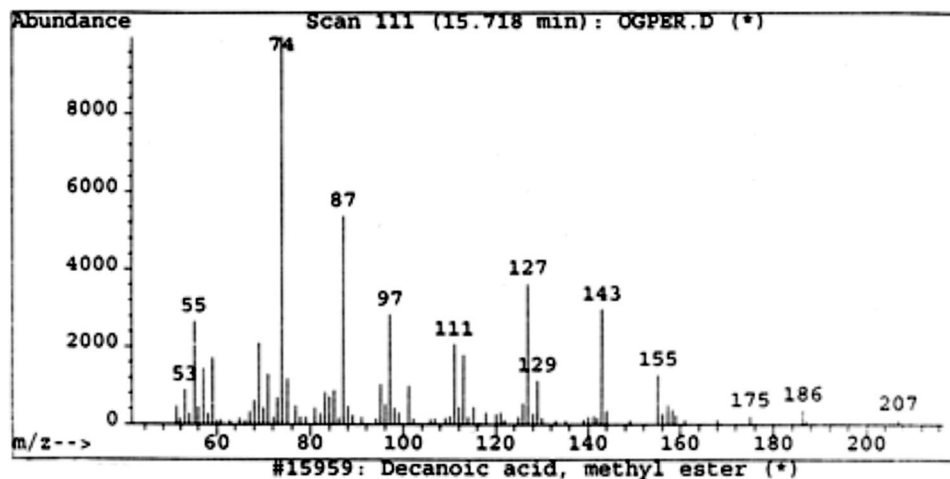
W przypadku kwasów dikarboksylowych uzyskano dane retencyjne dla homologów, zawierających od 4 do 8 grup metylenowych. Dysponowano substancjami wzorcowymi tych kwasów, o parzystej liczbie grup metylenowych. Niektóre z tych substancji, na podstawie otrzymanych widm masowych, identyfikowano w ekstraktach z zabytkowych papierów czerpanych. Dotyczy to przede wszystkim interesujących przypadków kwasów o nieparzystej liczbie atomów węgla, takich jak kwas pimelinowy i azelainowy.



Rys. 6. Widmo masowe estru dimetylowego kwasu azelainowego



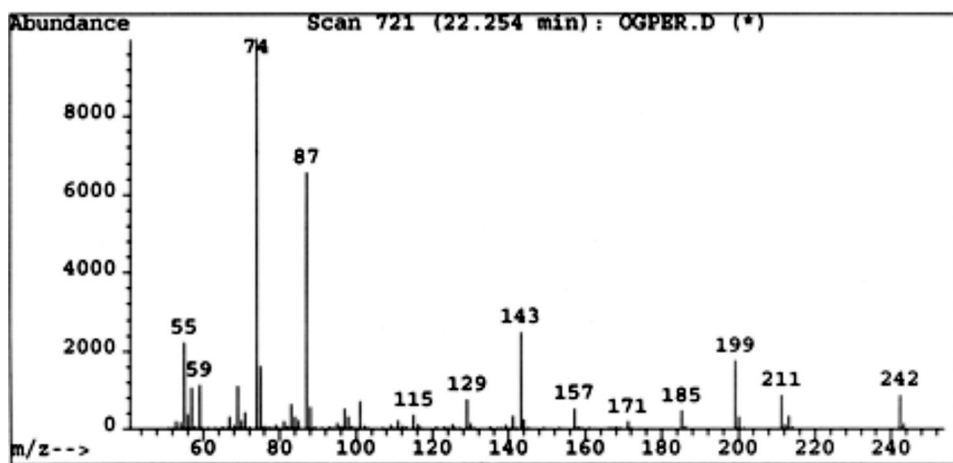
W zbliżonym przedziale czasów retencji rejestrowano także monokarboksylowe niższe kwasy alifatyczne: od kapronowego C—6 : 0 do kaprynowego C—10 : 0. W ekstraktach z zabytkowych papierów drukowych występowały one zawsze obok kwasów dikarboksylowych. Identyfikowano także kwasy monokarboksylowe o nieparzystej liczbie atomów węgla, najczęściej kwas pelargonowy C—9 : 0. Na identyfikację pierwszych kwasów z szeregu homologicznego nie pozwala obecność nakładających się pików interferencyjnych, pochodzących z rozdziału produktów pirolizy katalizatora transestryfikacji, a szczególnie *N,N'*-dimetyloaniliny.



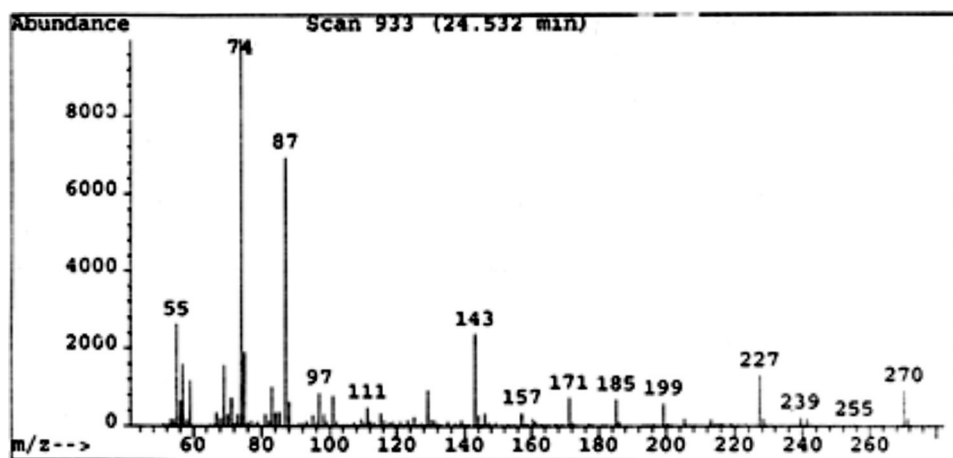
Rys. 7. Widmo masowe estru metylowego kwasu kaprynowego

Najmniejszych zastrzeżeń nie budzą dane katalogowe identyfikujące widma masowe nasyconych kwasów tłuszczowych. Za każdym razem, przy energii jonizacji 70 eV, dają dobrze wykształcony jon molekularny, który jednak nie jest jonem głównym o najwyższej intensywności. Zawsze towarzyszy mu jon, którego masa jest niższa o 42 jednostki, potwierdzający fakt fragmentacji zestryfikowanej grupy karboksylowej. W przypadku prezentowanych widm masowych estrów metylowych kwasu mirystynowego i palmitynowego są to jony  $m/z$  199 oraz  $m/z$  227. Dalsze rejestrowane na tych widmach jony są charakterystyczne dla fragmentacji, polegającej na odłączeniu się kolejnych grup metylenowych.

W ekstraktach spotykane są również rozgałęzione izomery kwasów tłuszczowych. Wszystkie jednak zamykają się w liczbie 16 lub 18 atomów węgla w cząsteczce. Rozpoczynając numerację łańcucha od atomu węgla karboksylowego, izomeryczne rozgałęzienie następuje w pozycjach parzystych: 4, 8, 12 itp. W przypadku rozgałęzienia pojedynczego znajduje się na końcu łańcucha, najczęściej w pozycji typu *izo*-metylowego.



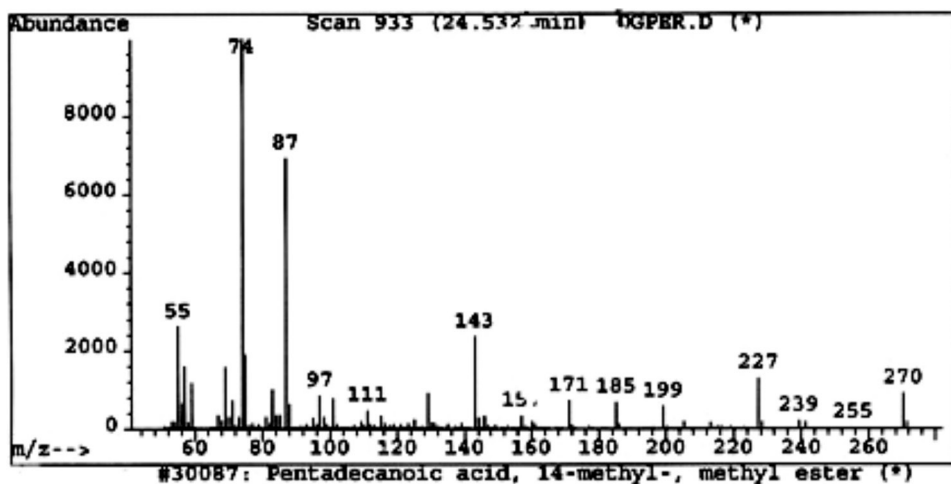
Rys. 8. Widmo masowe estru metylowego kwasu mirystynowego C—14 : 0



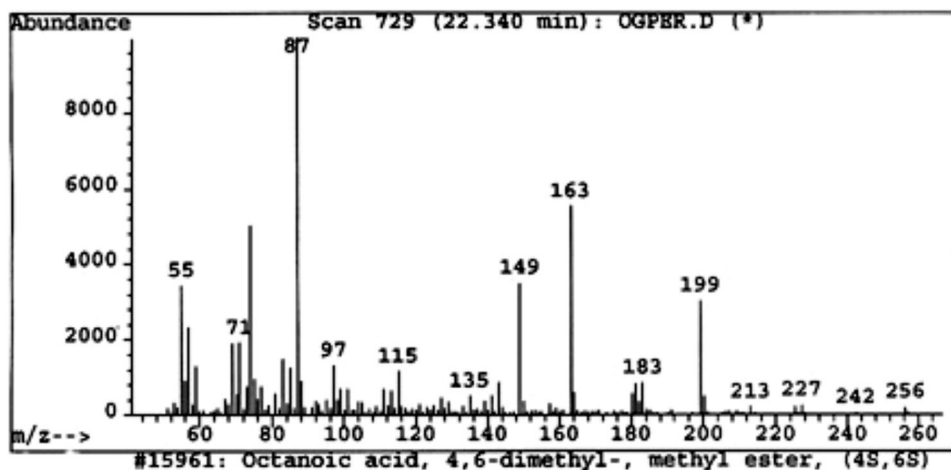
Rys. 9. Widmo masowe estru metylowego kwasu palmitynowego C—16 : 0

Widmo masowe estru metylowego kwasu tłuszczowego *izo*-metylowego jest podobne do nasyconego prostolańcuchowego analogu, poza wyróżniającą się przerwą rzędu 28 j.m.a. w miejscu rozgałęzienia, co odpowiada eliminacji ostatniego w łańcuchu atomu węgla łącznie z grupą metylową. W widmie tym charakterystyczne jest podwyższenie względnej intensywności jonów przyległych do miejsca rozgałęzienia, spowodowane utratą drugorzędowego rodnika.

W ekstraktach z papieru identyfikowano kwasy tłuszczowe o nieparzystej liczbie atomów węgla: od kwasu pelargonowego C—9 : 0 do pentadekanowego C—15 : 0. Ze względu na jakościową i ilościową zawartość tych kwasów w ekstraktach, zwrócono szczególną uwagę na ich wiarygodną identyfikację. Fragmentacja tych kwasów nie różni się od ich analogów z parzystą liczbą



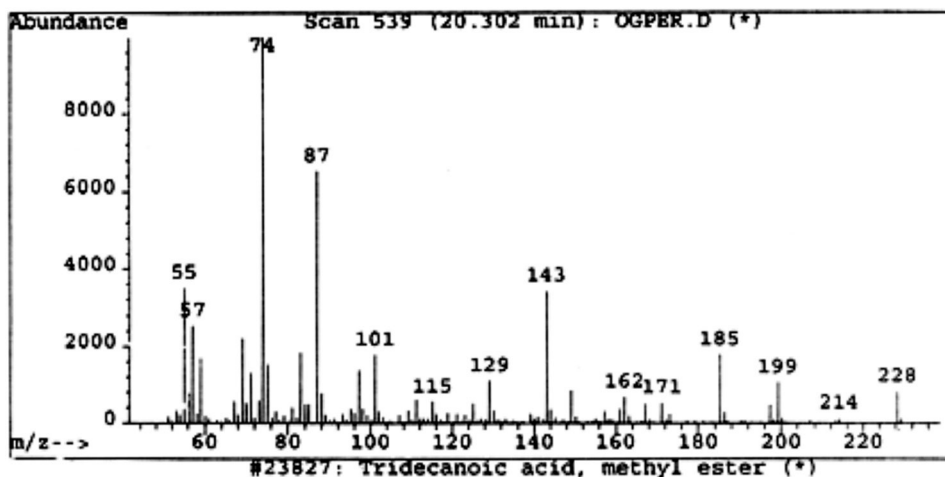
Rys. 10. Widmo masowe estru metylowego kwasu 14-metylopentadekanowego



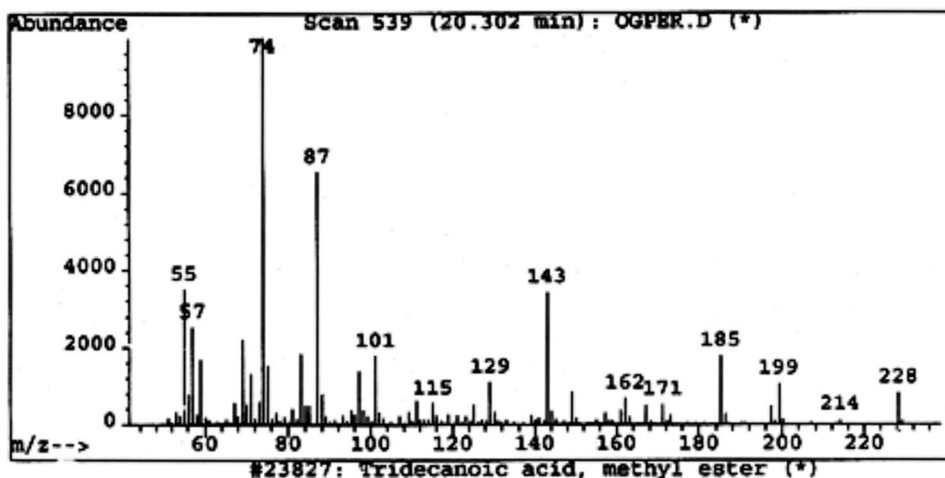
Rys. 11. Widmo masowe estru metylowego kwasu 4,6-dimetylokaprylowego

bą atomów węgla. Także i w tym przypadku mamy do czynienia z dobrze wykształconym jonem molekularnym i zarejestrowanym faktem fragmentacji zestryfikowanej grupy karboksylowej. Kwasy tłuszczowe o nieparzystej liczbie atomów węgla występują w organizmach żywych o najniższym stopniu rozwoju: w wirusach i bakteriach. W grzybach pleśniowych, wegetujących na papierze, identyfikowano zaledwie jeden kwas o  $C=17:0$ .

W identyfikacji mononienasyconych kwasów tłuszczowych problemem analitycznym pozostaje prawidłowa lokalizacja w łańcuchu węglowym podwójnego wiązania. Podobnie jak w widmie kwasu nasyconego, wyraźny jest jon molekularny, którego masa jest o dwie jednostki mniejsza w stosunku do

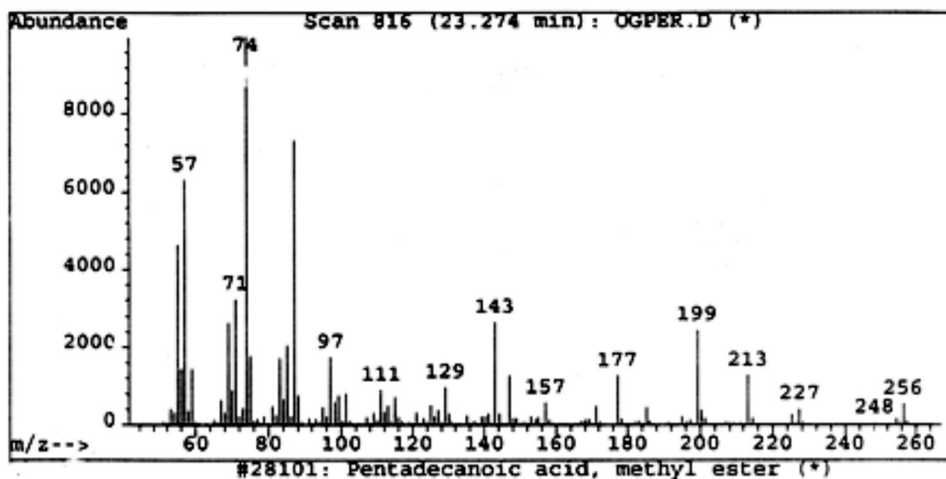


Rys. 12. Widmo masowe estru metylowego kwasu 4,8,12-trimetyloaurynowego

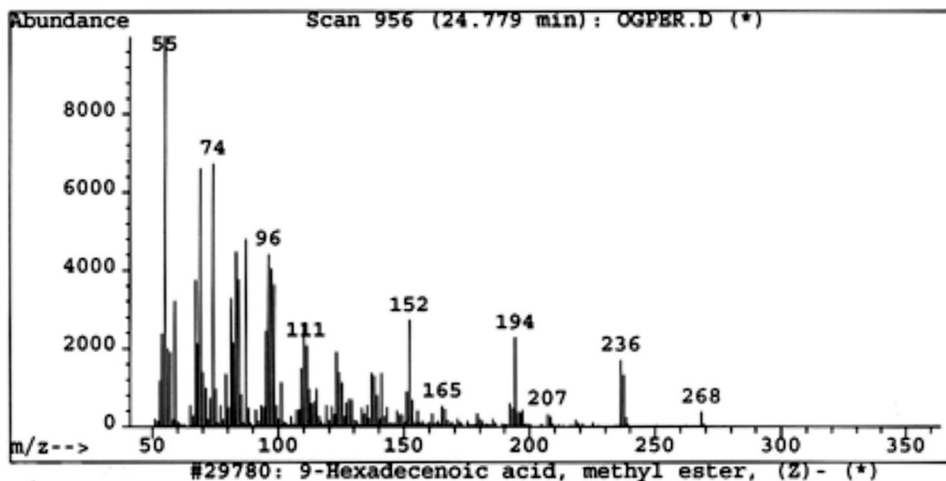


Rys. 13. Widmo masowe estru metylowego kwasu tridekanowego C—13 : 0

analogu nasyconego. Następny jest konsekwencją eliminacji zestyfikowanej grupy karboksylowej, a dalsze — jednostek metylenowych z łańcucha węglowego. Ustalenie wiązania podwójnego jest możliwe w przypadku prawidłowej lokalizacji w widmie szczeliny równej 26 j.m.a. Powyżej wiązania podwójnego wszystkie jony mają  $m/z$  o dwie jednostki mniejszą w stosunku do nasyconych kwasów tłuszczowych, podczas gdy jony o niższych masach występują na normalnych pozycjach. Powyżej miejsca z wiązaniem podwójnym, po dwóch i trzech jednostkach metylenowych, fragmentacja zawsze wykazuje obecność dwóch jonów o wyraźnie podwyższonej intensywności.



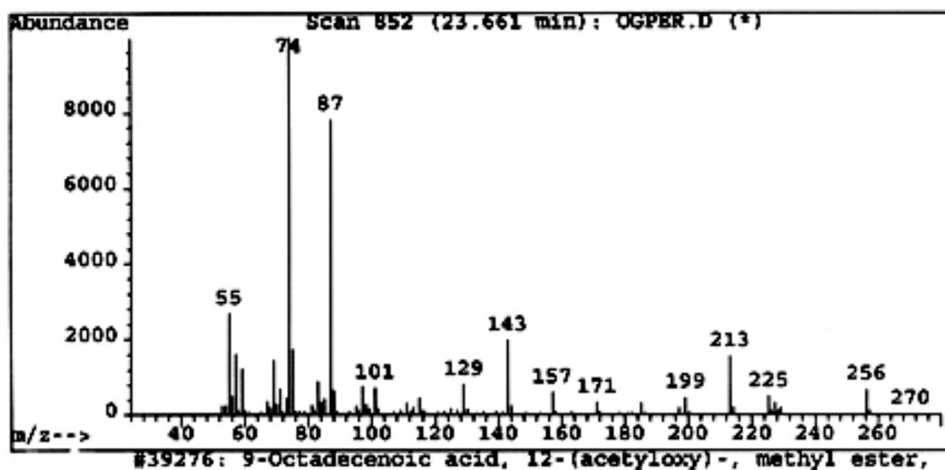
Rys. 14. Widmo masowe estru metylowego kwasu pentadekanowego C—15 : 0



Rys. 15. Widmo masowe estru metylowego kwasu oleinowego C—18 : 1

Bardziej precyzyjne ustalenie położenia podwójnego wiązania jest możliwe wyłącznie w sytuacji interpretacji widma masowego estru pikolinowego. Wspomniane dwa jony są zdecydowanie intensywniejsze na skutek przemieszczania się reaktywnego atomu wodoru z łańcucha węglowego na atom azotu w ugrupowaniu pikolinowym i utworzeniu miejsca rodnikowego.

Z pochodnych tlenowych w ekstraktach identyfikowano kwasy tłuszczowe z grupą hydroksylową. Ich tworzeniu służą dwa podstawowe mechanizmy: bezpośrednia hydroksylacja z wykorzystaniem tlenu cząsteczkowego lub reakcja hydratacji podwójnego wiązania. Nie przesądzając w tym miejscu o dominacji któregośkolwiek z wymienionych mechanizmów, stwierdzono, że w ekstraktach



Rys. 16. Widmo masowe hydroksylowej pochodnej kwasu tłuszczowego C—18 : 1

heksanowych z zabytkowych papierów drukowych identyfikowano wyłącznie pośrednie acylowe formy hydroksykwasów tłuszczowych.

Prezentowane przykłady widm masowych kwasów tłuszczowych uzyskano z analizy w układzie GC-MS rzeczywistych ekstraktów heksanowych badanych papierów zabytkowych. Ich korelacja w stosunku do wzorcowych widm katalogowych wynosiła minimum 85%.

## Profile kwasów tłuszczowych w papierach zabytkowych

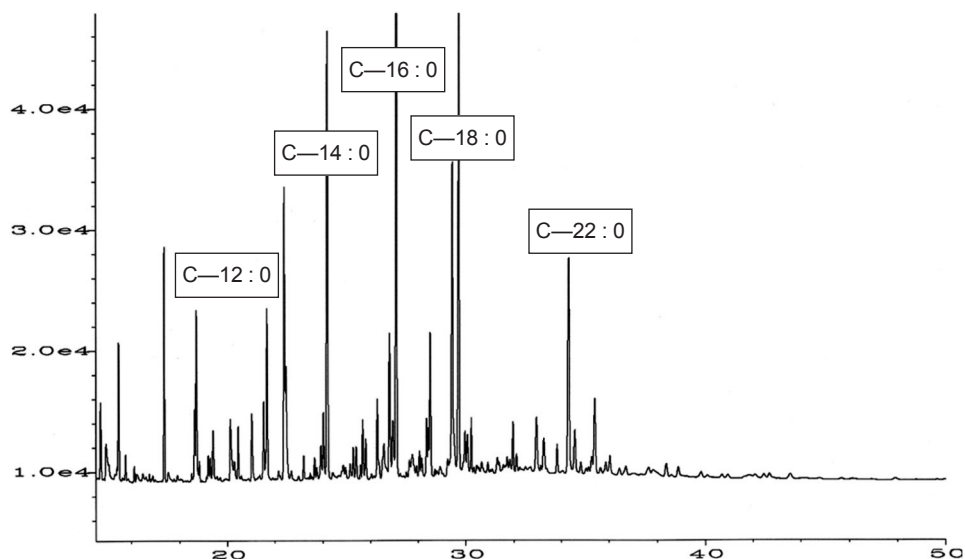
Historyczne papiery czerpane, formowane na sicie, przed poddaniem ich zabiegom uszlachetniającym to substancje porowate, bibulaste, nienadające się do pisania i drukowania. W celu uzyskania oczekiwanych właściwości użytkowych wymagane było dokonanie zabiegów wykańczających, do których zaliczyć należy zaklejanie i ewentualne barwienie powierzchni. Odporność na przenikanie oraz właściwą chłonność atramentu i tuszu drukarskiego papiery te nabywały po ich powierzchniowym przeklejaniu roztworem naturalnego polimeru pochodzenia zwierzęcego. Co więcej, dzięki temu procesowi wzrastała wytrzymałość mechaniczna, ponieważ stosowane kleje zwierzęce dodatkowo usztywniały włókna celulozowe.

Do połowy XVII wieku technologia powierzchniowego przeklejania papieru czerpanego nie podlegała żadnym zmianom. Stosowany klej otrzymywany był z odpadów wytwarzanych w trakcie produkcji pergaminu. Sam pergamin w tym okresie był nadal traktowany jako materiał ekskluzywny, służący do pisania i drukowania, przede wszystkim ksiąg liturgicznych oraz dokumentów dworskich i przywilejów. Ewentualne różnice w składzie jakościowym kleju pergaminowego mogą wynikać z zastosowania odmiennych gatunków pergaminu. Historycy rozróżniają pergamin południowy — *charta italica*, oraz północny — *charta teutonica*. Pierwszy, bardziej miękki i dwustronnie zapisywany, produkowany był ze skór jagniąt i kozłat, drugi — jednostronny, ze skór cielęcych.

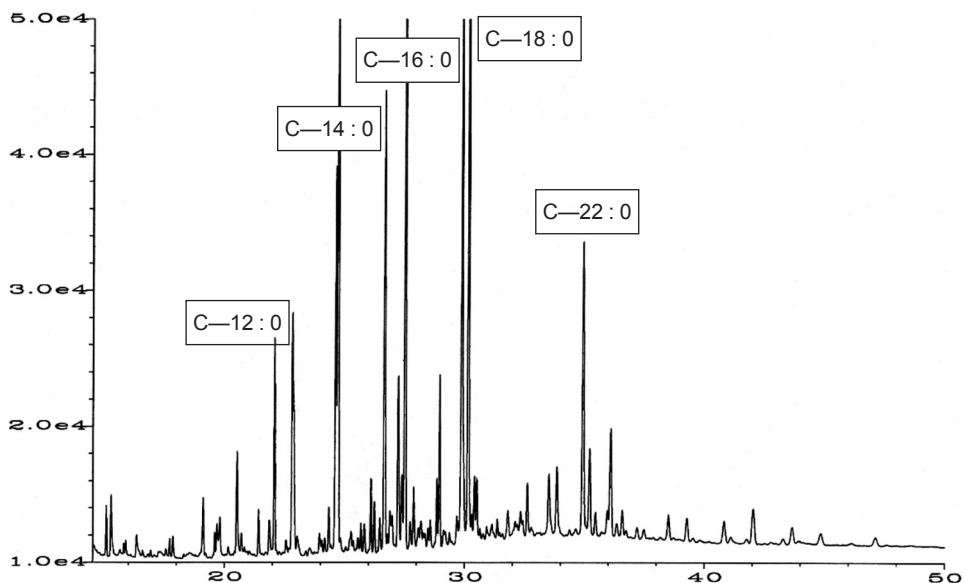
Około 1650 roku do technologii wypełniania papieru wprowadzono siarczan glinowo-potasowy, utrwalający osad klejowy na włóknach. W tym czasie produkcja kleju była już działalnością manufakturową, zaspakajającą potrzeby piśmiennictwa. Zastosowanie alunu pozwoliło także na wykorzystanie do produkcji kleju mniej szlachetnych surowców — odpadów bydlęcych. Współczes-



nym odpowiednikiem takiego produktu jest klej skórny. Pod koniec XVII wieku wprowadzony został klej produkowany z odpadów rybich. W piernic-  
 twie południowo-europejskim nie był jednak stosowany. Wymienione rodzaje  
 wypełniaczy będą decydowały o profilach kwasów tłuszczowych, zachowa-  
 nych do czasów współczesnych w zabytkowych papierach czerpanych. Dla



Rys. 17. Chromatogram z rozdziału kwasów tłuszczowych zawartych w kleju pergaminowym

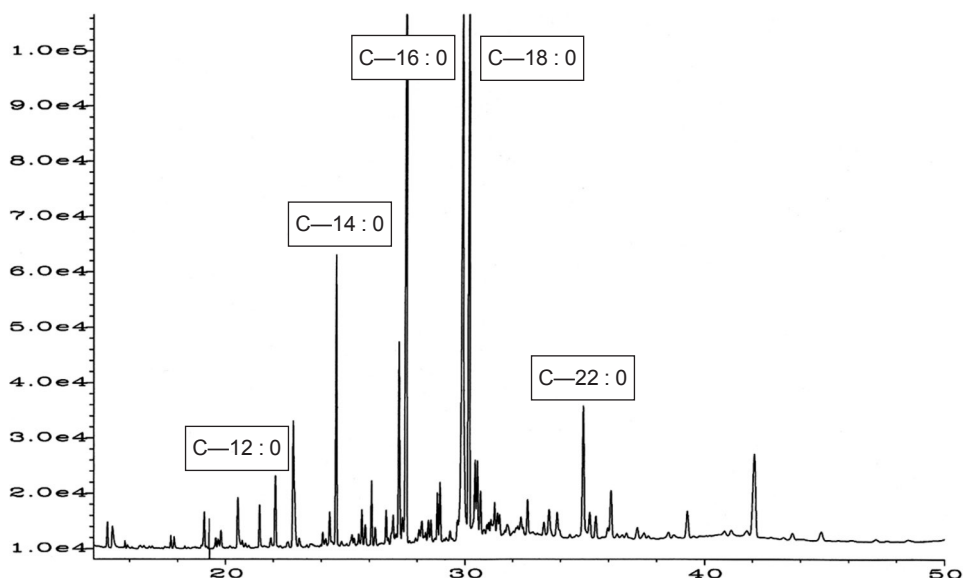


Rys. 18. Chromatogram z rozdziału kwasów tłuszczowych zawartych w kleju skórnym

prezentowanych badań obydwu gatunki kleju pergaminowego wyprodukowano na skalę laboratoryjną, wykorzystując niezapisane fragmenty historycznych materiałów. Warto wspomnieć, że współczesny klej skórny w swoim składzie jakościowym nie różni się od swego odpowiednika sprzed 350 lat. Ujawnia jedynie wyższą zawartość kolagenu w stosunku do lipidów. Klej rybi nadal produkowany jest w Archangielsku, skąd kupcy holenderscy wprowadzili go do papiernictwa około 1680 roku.

Analiza chromatograficzna heksanowych ekstraktów z gramowych odważek tych klejów ujawniła spektrum jakościowe substancji tłuszczowych, możliwe do zinterpretowania. Ponieważ ekstrakty z papieru wymagały dodatkowego oczyszczania techniką SPE, zdecydowano się na jej zastosowanie także w przypadku ekstraktów z klejów zwierzęcych. Dopiero po tej operacji jakościowa identyfikacja kwasów tłuszczowych oraz ilościowa interpretacja ich zawartości spełniają warunki analitycznej wiarygodności. Ekstrakty sączone przez bibułę Whatmana, zbudowaną z czystej celulozy, a następnie odparowywano do objętości 1 cm<sup>3</sup> w strumieniu zimnego argonu lub helu. Dalsze czynności analityczne przebiegały identycznie jak dla ekstraktów z papieru.

Na podstawie uzyskanych chromatogramów oraz wydruków komputerowych dokonano obliczeń ilościowych, pozwalających na wyrażenie procentowej zawartości kwasów tłuszczowych w przeliczeniu na sumę powierzchni zarejestrowanych pików. Ponadto, na podstawie różnicy mas kleju przed i po ekstrakcji, ustalono ilościową zawartość substancji ekstrahowalnych. W przy-



Rys. 19. Chromatogram z rozdzielu kwasów tłuszczowych zawartych w kleju rybim

padku zastosowania heksanu jako czynnika ekstrahującego powinny stanowić przede wszystkim tłuszcze, w nieznacznym stopniu fosfolipidy i sterole. Ostatnie dwie grupy substancji w skuteczny sposób usuwane są w samym procesie technologicznym otrzymywania klejów, prowadzonym początkowo w środowisku silnie kwasowym, a następnie alkalizowanym do odczynu obojętnego. W przypadku oznaczanych trójglicerydów ich obecność w kleju jest także technologicznym zanieczyszczeniem, pożądanym jednak ze względu na właściwości emulgujące.

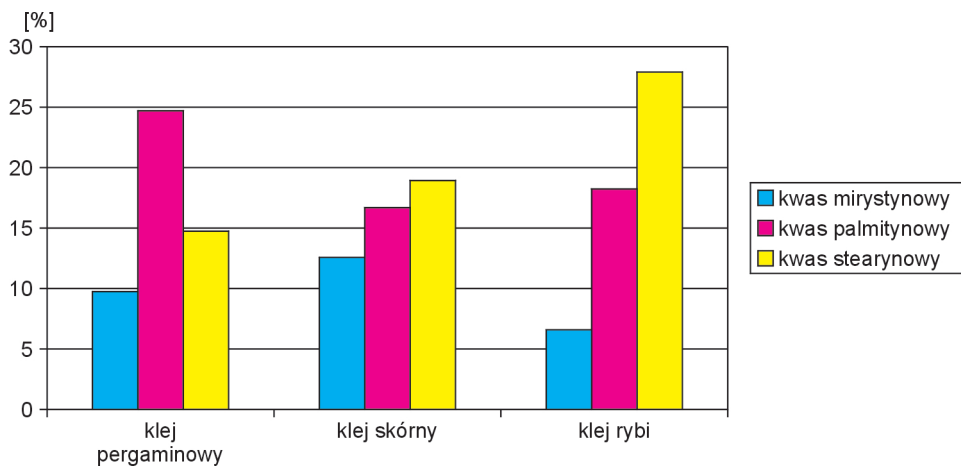
Tabela 1

Zawartość kwasów tłuszczowych w ekstraktach heksanowych z klejów zwierzęcych po oczyszczeniu techniką SPE (w %)

Oznaczane kwasy tłuszczowe	Rodzaj wypełniacza klejowego papieru		
	pergaminowy	bydlęcy skórny	rybi
Kaprynowy	4,12	—	—
Oleolaurynowy	0,58	—	—
Laurynowy	3,94	0,89	0,46
Oleomirystynowy	0,32	2,18	—
<b>Mirystynowy</b>	<b>9,87</b>	<b>12,61</b>	<b>6,58</b>
Oleopalmitynowy	1,12	0,45	4,32
<b>Palmitynowy</b>	<b>24,80</b>	<b>16,82</b>	<b>18,21</b>
Linolenowy	—	—	0,49
Linolowy	—	0,98	0,68
Oleinowy	5,12	9,74	14,16
<b>Stearynowy</b>	<b>14,87</b>	<b>18,96</b>	<b>22,98</b>
Gadoleinowy	—	—	—
Arachidowy	0,67	—	—
Erukowy	—	—	—
Behenowy	2,09	4,12	1,76
Nerwonowy	—	—	—
Lignocerylowy	—	0,62	0,94
S u m a	67,50	67,37	70,58

W przypadku klejów zwierzęcych we frakcjach trójglicerydowych dominują nasycone kwasy tłuszczowe, od mirystynowego C—14 : 0 do stearynowego C—18 : 0, z niewielkim udziałem kwasu behenowego C—20 : 0. W kleju pergaminowym profil kwasu palmitynowego do stearynowego wyrażany jest stosunkiem procentowym 3 : 2. W kleju skórnym, który jest substytutem kleju pergaminowego z północy Europy, stosunek ten wynosi 1 : 1. Cechą kleju skórnego jest także wyraźnie wyższa zawartość kwasu mirystynowego. Klej rybi natomiast w swoim profilu nasyconych kwasów tłuszczowych bliższy jest klejowi skórnemu niż pergaminowemu. Zawiera on ponadto nieujawnioną na wykresie 1 znaczną ilość kwasu oleinowego, większą od ilości kwasu mirystynowego.

Chromatogramy z ekstraktów z zabytkowych papierów drukowych prezentowały znacznie bardziej zróżnicowany skład jakościowy w porównaniu z kle-



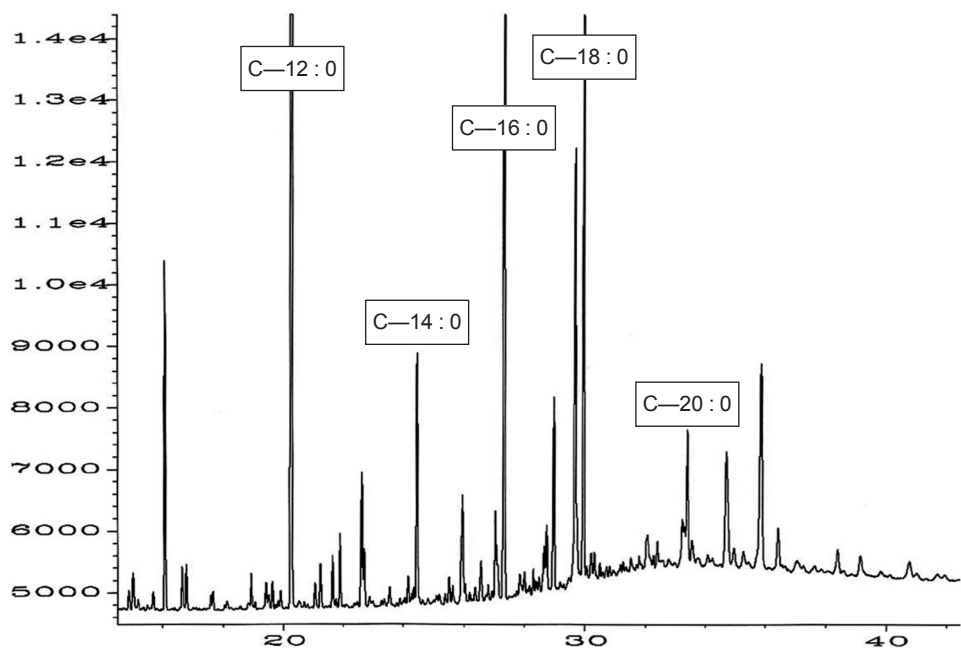
Wykres 1. Profil nasyconych kwasów tłuszczowych w ekstraktach heksanowych z klejów zwierzęcych po oczyszczeniu techniką SPE

jami zwierzęcymi. Również profil nasyconych kwasów tłuszczowych ujawniał ilościowe różnice. W przypadku najstarszych badanych obiektów wynikały one także z miejsca druku, tożsamego z miejscem wytworzenia papieru, oraz zachodzących w warstwie klejowej papieru przemian chemicznych.

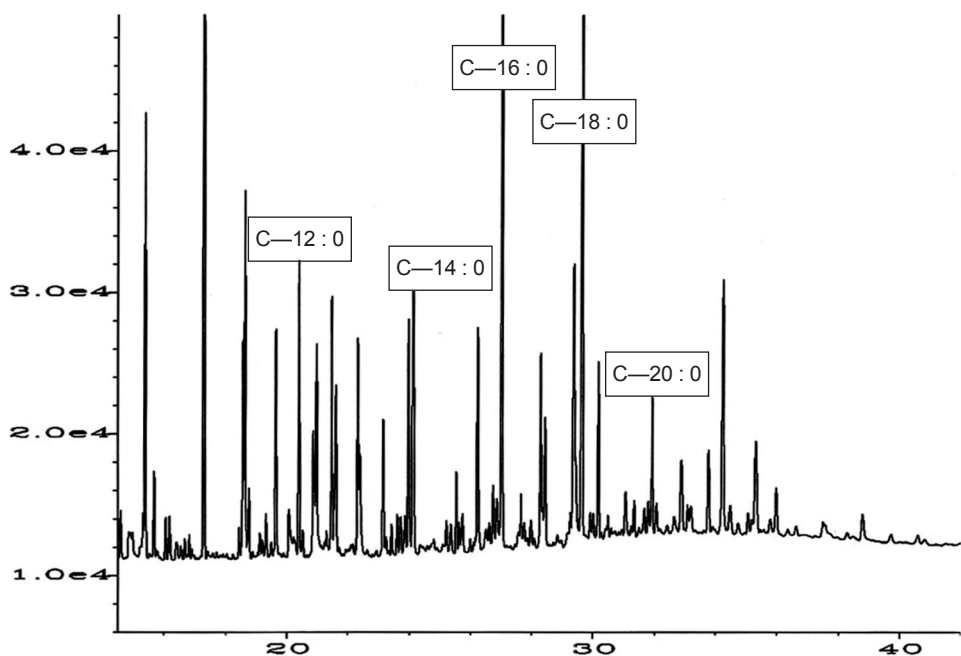
Badaniu poddano także trzy próbki papierów włoskich, pochodzących z inkunabułów wytłoczonych w oficynach Wenecji i Bolonii. Analiza jakościowa i ilościowa na obecność kwasów tłuszczowych w żadnej z próbek nie ujawniła istotnych różnic, dlatego prezentowane wyniki ograniczono do materiału przykładowego, na który wybrano papier z *Mszału Rzymskiego*, wydanego w 1490 roku przez Otaviano Scoto w Wenecji.

Papiery z Europy Północnej reprezentowało jedenaście próbek, pochodzących z inkunabułów wydanych w oficynach w Strasburgu, Norymberdze, Bazylei, Ulm i w Lipsku. Również w tym przypadku, poza zróżnicowanym stopniem przeklejenia papierów, nie stwierdzono istotnych dysproporcji jakościowych i ilościowych na obecność kwasów tłuszczowych, występujących w poszczególnych badanych obiektach. W prezentacji wyników ograniczono się więc do jednego przykładu, reprezentatywnego dla wszystkich jedenastu próbek, który wyróżniał średni stopień wypełnienia, rzędu 15% kleju w papierze. Tak więc do przedstawienia procesu starzenia się najstarszych papierów drukowanych, pochodzących z Europy Północnej, wybrano próbkę papieru inkunabułowego druku ze Strasburga z 1483 roku. Warto dodać, że najwyższym stopniem przeklejenia, dochodzącym do 20% zawartości kleju, charakteryzowały się papiery w inkunabułach z oficyny Antrona Kobergera z Norymbergi.

Różnice w obrazie profilu nasyconych kwasów tłuszczowych, jakie ujawniają najstarsze papiery włoskie i niemieckie, wynikają ze stosowania przez dawnych papierników odmiennych klejów pergaminowych, różniących się spo-



Rys. 20. Chromatogram z rozdziálu kwasów tłuszczowych z papieru południowego — Wenecja 1490



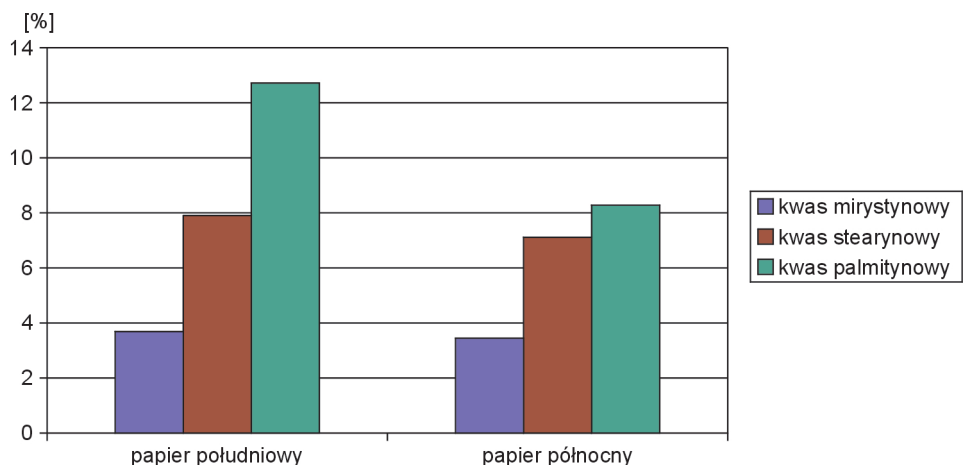
Rys. 21. Chromatogram z rozdziálu kwasów tłuszczowych z papieru północnego — Strasburg 1483

sobem wytworzenia oraz użytym surowcem, który mógł stanowić pergamin południowy — *charta italica*, bądź pergamin północny — *charta teutonica*. Różnice te są szczególnie widoczne w zmianie sekwencji zawartości kwasu palmitynowego i stearynowego.

T a b e l a 2

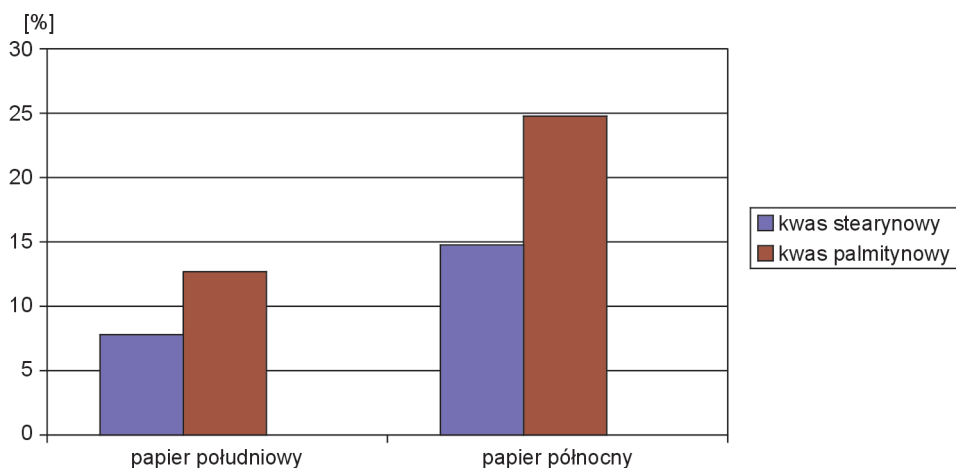
Zawartość kwasów tłuszczowych w ekstraktach heksanowych z papierów inkunabułowych po oczyszczeniu techniką SPE (w %)

Oznaczone kwasy tłuszczowe	Papier południowy	Papier północny
Kaprylowy	3,23	3,65
Kaprynowy	0,45	3,10
Oleolaurynowy	0,94	2,51
Laurynowy	<b>6,85</b>	<b>2,35</b>
Oleomirystynowy	0,32	2,42
<b>Mirystynowy</b>	<b>3,64</b>	<b>3,41</b>
Oleopalmitynowy	1,36	0,84
<b>Palmitynowy</b>	<b>12,73</b>	<b>8,23</b>
Linolenowy	0,94	2,00
Linolowy	2,74	1,56
Oleinowy	5,53	4,64
<b>Stearynowy</b>	<b>7,89</b>	<b>7,50</b>
Gadoleinowy	—	—
Arachidowy	1,19	1,66
Erukowy	—	—
Behenowy	3,02	4,18
Nerwonowy	—	—
Lignocerylowy	—	—
S u m a	50,83	48,05



Wykres 2. Profil nasyconych kwasów tłuszczowych w ekstraktach heksanowych z papierów inkunabułowych północnych i południowych po oczyszczeniu techniką SPE

Z przedstawionych wykresów wynika, że profile nasyconych kwasów tłuszczowych w papierach inkunabułowych z druków z oficyn włoskich i niemieckich są wypadkową zawartości tych kwasów w klejach zwierzęcych, użytych do ich wypełnienia. Podobnie jak w kleju pergaminowym, w papierze południowym procentowa zawartość kwasu palmitynowego do stearynowego wyraża się stosunkiem 3 : 2. W przypadku papieru północnego, obydwa kwasy znajdują się w procentowej równowadze, podobnie jak w kleju skórnym. W obydwu przykładach suma kwasu palmitynowego i stearynowego, wyrażona w procentach, jest zdecydowanie niższa niż w odpowiednich klejach zwierzęcych. W kleju pergaminowym i w papierze południowym wynosi średnio 50% i 20%, a w kleju skórnym i papierze północnym 35% i 16%. Można więc zauważyć, że w wielowiekowym przedziale czasowym nasycone kwasy tłuszczowe w najstarszych papierach drukowych ulegają wyraźnym jakościowym przemianom, które przekładają się na ich zmiany ilościowe. Wykazane różnice w zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych w klejach i papierach inkunabułowych łatwo odczytać na wykresie.

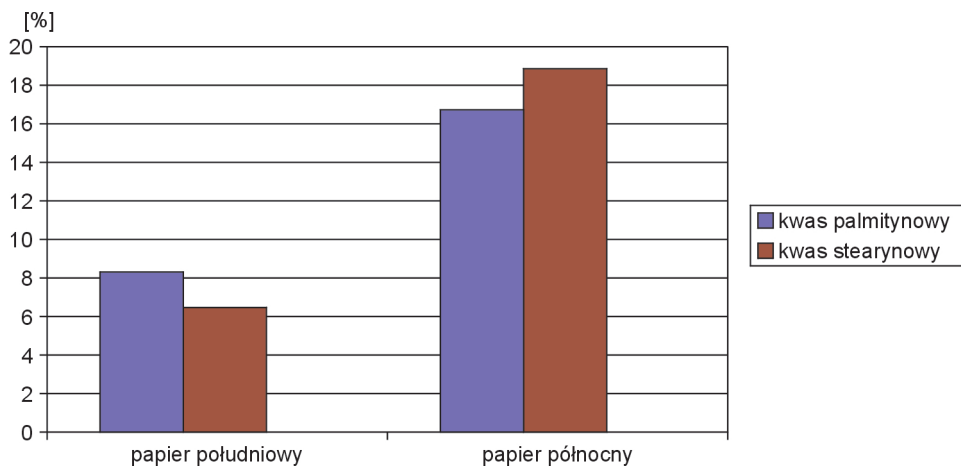


Wykres 3. Profil nasyconych kwasów tłuszczowych w ekstraktach heksanowych z kleju pergaminowego i papieru południowego po oczyszczeniu techniką SPE

Równie wyraźnie przedstawiają się różnice w profilach nasyconych kwasów tłuszczowych przy ocenie papieru inkunabułowego północnego i kleju skórnego. W tym przypadku klej skórnym jest współczesnym substytutem kleju uzyskiwanego z odpadów przy produkcji pergaminów jednostronnych ciętych, wykorzystywanego przez papierników z północnej Europy.

Przedstawione wyniki dotyczą papierów druków inkunabułowych z XV wieku, które otrzymywano w procesie rozlewania czerpakiem na sito zawiesziny celulozowej. Uzyskiwanie podobnych pod względem grubości arkuszy





Wykres 4. Profil nasyconych kwasów tłuszczowych w ekstraktach heksanowych z kleju skór- nego i papieru północnego po oczyszczeniu techniką SPE

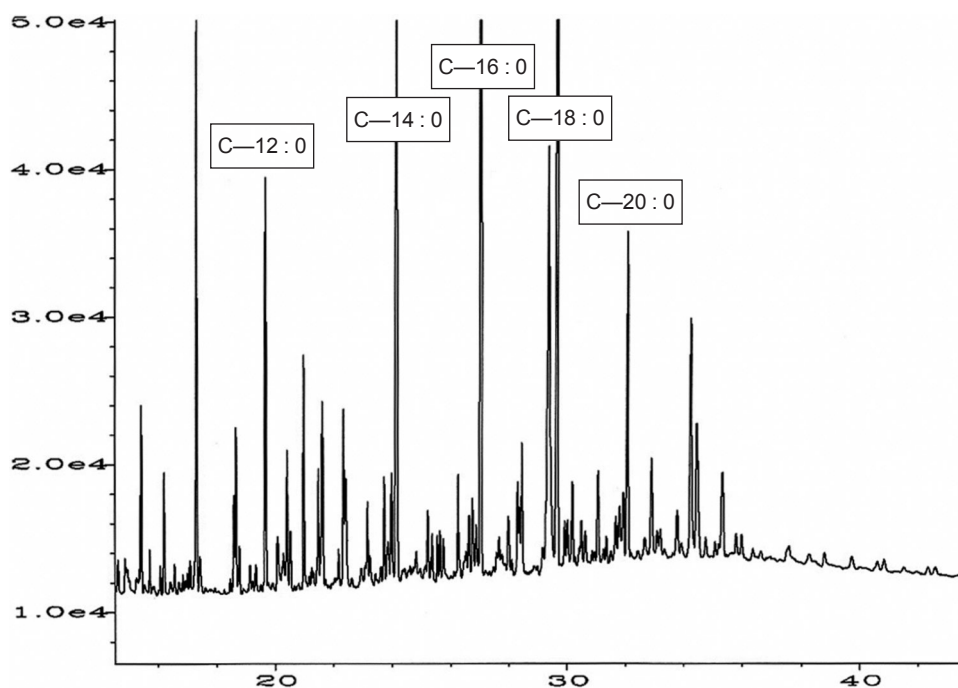
papieru wymagało od papiernika wprawy i doświadczenia. Papiery z tego okresu były więc strukturalnie i wymiarowo zróżnicowane i dodatkowo w wysokim stopniu wypełniane powierzchniowo klejami zwierzęcymi. W wieku XVI wprowadzono zanurzeniową formę osadzania włókien celulozowych na sitach, dzięki czemu papiery pochodzące z różnych młynów stały się cieńsze i jakościowo porównywalne. Na poziomie około 10% w stosunku do masy celulozowej ustabilizował się również stopień zaklejania papieru.

W dalszych badaniach, obejmujących materiał z lat 1501—1550, korzystano z papierów weneckich. Z papierów bazylejskich pobrano natomiast próbki mające służyć zbadaniu materiału z okresu 1551—1600. Wenecja i Bazylea były ośrodkami drukarskimi i papierniczymi, uznawanymi w XVI wieku za dominujące w Europie. Papiery weneckie reprezentowało sześć, a bazylejskie dziewięć próbek. Analiza chromatograficzna ekstraktów z tych papierów na obecność kwasów tłuszczowych nie dostarczyła nowych informacji poza tymi, które ujawniła analiza papierów inkunabułowych. Potwierdziła obniżenie stopnia przeklejenia tych papierów, co wymagało podniesienia wzmocnienia sygnału detektora chromatograficznego. Chromatogramy prezentowały także zróżnicowany skład jakościowy w stosunku do analiz wzorcowych klejów zwierzęcych, ale zachowywały profile kwasu palmitynowego i stearynowego, charakterystyczne dla kleju, którym papiery zostały wypełnione.

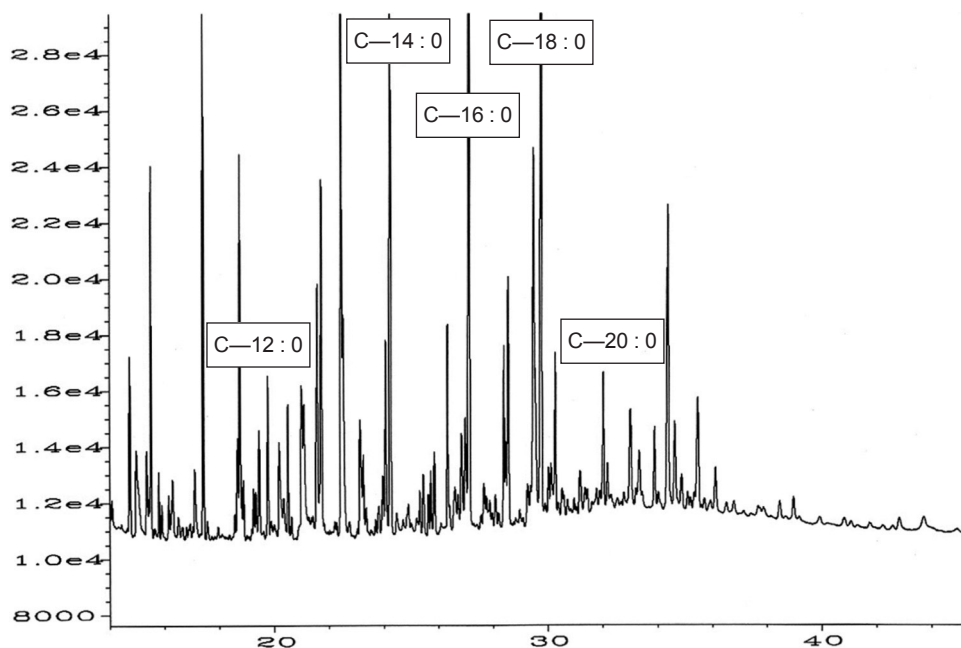
Badane papiery z XVII wieku pochodziły z Antwerpii i Kolonii. Dla zbadania materiału z lat 1601—1650 wykorzystano pięć próbek papieru z druków oficyn antwepskich. Dziewięć próbek papieru z druków oficyn kolońskich posłużyło natomiast do badań materiału z lat 1651—1700. Chromatogramy ekstraktów heksanowych z tych papierów potwierdziły, niepewne dotychczas, informacje historyczne na temat wprowadzenia kleju rybiego do europejskiego

papiernictwa już w początkach XVII wieku przez papierników z historycznej Brabancji. Świadczy o tym specyficzna sekwencja kwasów tłuszczowych, która charakteryzowała papier druku antwerpskiego z 1640 roku. W późniejszym okresie, zwłaszcza pod koniec XVII wieku, stosowanie kleju rybiego nie należało już do rzadkości. Przykładowo, na dziewięć próbek papierów z druków kolońskich, trzy z nich wypełnione zostały tym właśnie klejem.

Jak już wspomniano, do Europy Zachodniej klej rybi sprowadzany był z Archangielska przez kupców holenderskich. Jego zastosowanie w papiernictwie uzależnione było od politycznej sytuacji w carskiej Rosji, która wpływała na swobodę wymiany towarowej. Było także reakcją na spadającą produkcję pergaminu. W XVII wieku pergamin jako materiał piśmienniczy nadal powszechnie stosowany był w dyplomacji watykańskiej i incydentalnie do zapisu królewskich dokumentów nobilitacyjnych oraz przywilejów, a także ważnych dokumentów miejskich. Wyparty został natomiast z ksiąg liturgicznych, które po soborze trydenckim, jako *Missale* i *Breviarum Romanum*, drukowane były wyłącznie na papierze.



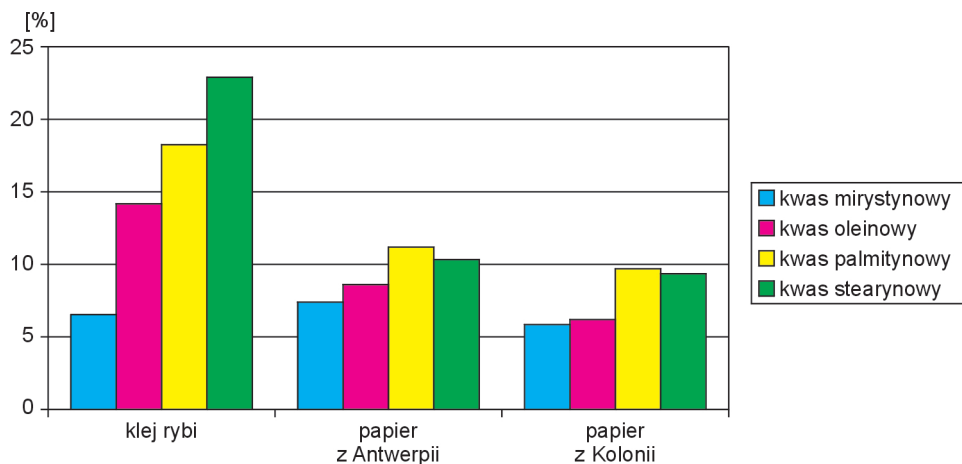
Rys. 22. Chromatogram z rozdzielu kwasów tłuszczowych z papieru północnego — Antwerpia 1640



Rys. 23. Chromatogram z rozdziu kwasów tłuszczowych z papieru północnego — Kolonia 1682

Tabela 3  
Zawartość kwasów tłuszczowych w ekstraktach heksanowych papierów z XVII wieku po oczyszczeniu techniką SPE (w %)

Oznaczone kwasy tłuszczowe	Antwerpia (1640)	Kolonia (1682)
Kaprylowy	1,10	1,01
Kaprynowy	3,84	2,78
Oleolaurynowy	0,94	1,28
Laurynowy	3,64	1,02
Oleomirystynowy	0,96	1,32
<b>Mirystynowy</b>	<b>7,43</b>	<b>5,91</b>
Oleopalmitynowy	1,05	0,97
<b>Palmitynowy</b>	<b>11,15</b>	<b>9,80</b>
Linolenowy	0,80	1,00
Linolowy	1,25	1,79
<b>Oleinowy</b>	<b>8,58</b>	<b>6,14</b>
<b>Stearynowy</b>	<b>10,30</b>	<b>9,40</b>
Gadoleinowy	—	—
Arachidowy	1,19	1,50
Erukowy	—	—
Behenowy	2,42	2,25
Nerwonowy	—	—
Lignocerylówy	—	—
S u m a	54,65	46,17



Wykres 5. Profil kwasów tłuszczowych w ekstraktach heksanowych z kleju rybiego i wybranych papierów z XVII wieku po oczyszczeniu techniką SPE

Obecność w papierze kleju rybiego ujawnia się przede wszystkim znaczną zawartością kwasu oleinowego, wyższą niż w przypadku zastosowania pozostałych znanych klejów zwierzęcych. Przekłada się to także na obecność w ekstraktach heksanowych z badanych papierów kwasów dikarboksylowych i kwasów tłuszczowych o nieparzystej liczbie atomów węgla, jako prawdopodobnych produktów jego przemiany.

## Mechanizm fizykochemicznych przemian składników papieru zabytkowego

Przedmiotem dotychczas realizowanych badań nad mechanizmem procesu naturalnego starzenia się papieru pozostaje celuloza, jako podstawowy składnik tego materiału. Nie ma wątpliwości, że w warunkach wieloletniego przechowywania celuloza z papieru ulega hydrolizie, katalizowanej w środowisku kwasowym. Procesowi temu towarzyszy depolimeryzacja łańcucha oraz utlenianie hydrolizatów. W konsekwencji, w papierach zabytkowych bez trudu identyfikowane są produkty przemian, zawierające grupy funkcyjne hydroksylowe, aldehydowe, ketonowe i karboksylowe. Stwierdzono, że reakcja ta posiada charakter łańcuchowy i wolnorodnikowy, a podstawowymi produktami generującymi jej przebieg są substancje o charakterze nadtlenczków i wodoronadtlenków. Takie produkty identyfikowano jodometrycznie w ekstraktach chloroformowych z papierów zabytkowych. Poniżej przedstawiono mechanizm autooksydacyjnej depolimeryzacji celulozy.

Inicjowanie łańcucha:



Wzrost łańcucha:

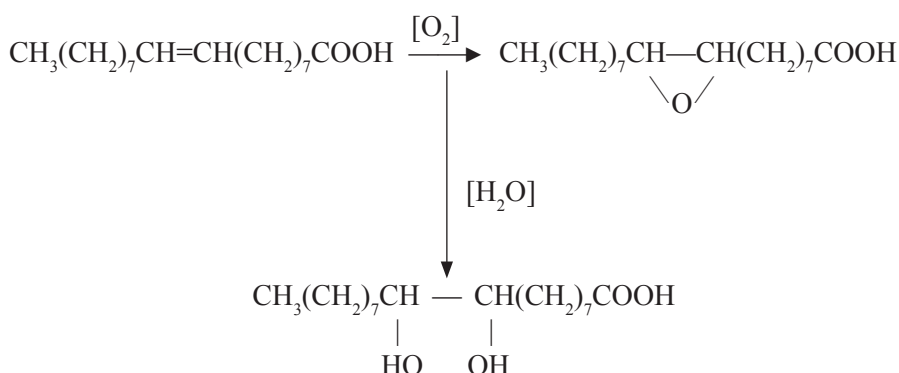


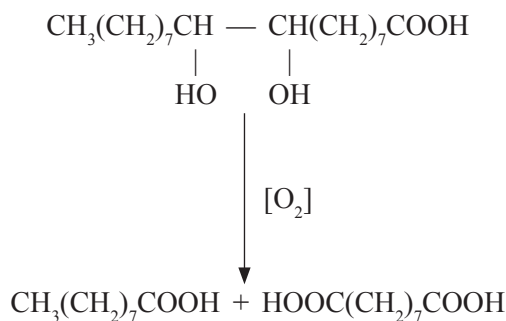
Wzrost łańcucha przez rozkład nadtlenu:



Zakończenie reakcji wolnorodnikowej następuje w wyniku zderzenia się dwóch rodników. W efekcie powstają stabilne chemicznie produkty utleniania, niebędące wolnymi rodnikami.

Niezbadanym do tej pory obszarem pozostaje mechanizm naturalnego starzenia się papieru w obszarze substancji pomocniczych, do których zalicza się stosowane przez historycznych papierników kleje zwierzęce. Także i w tym przypadku mamy do czynienia z utlenianiem tlenem z powietrza składników kleju, szczególnie tych o charakterze nienasyconym. Wśród nich można wyróżnić przede wszystkim wszelkie struktury lipidowe, w których tworzeniu biorą udział nienasycone kwasy tłuszczowe. W klejach zwierzęcych dominują jednak substancje lipidowe o charakterze nasyconym, dlatego wolnorodnikowa reakcja utleniania nie jest dominująca. Pośrednio potwierdza to analiza identyfikacyjna produktów zawartych w ekstraktach heksanowych z papierów zabytkowych. Tlenowe pochodne kwasów tłuszczowych identyfikowano incydentalnie, w zależności od użytego kleju zwierzęcego i zawartego w nim kwasu oleinowego. Reakcja autooksydacji nienasyconego kwasu tłuszczowego przebiega następująco:





Znaczna zawartość w produktach przemian substancji pomocniczych niższych kwasów alifatycznych oraz dikarboksylowych pozwala podejrzewać, że utlenianie kwasów nienasyconych i hydroliza powstałych połączeń epoksydowych nie jest jedynym źródłem ich pochodzenia. Podobny efekt można uzyskać bez udziału tlenu w pirolizie, zachodzącej pod wpływem działania światła i temperatury. Specyficznym parametrem wszelkich przemian chemicznych, dokonujących się w badanym materiale, jest również czas reakcji, tożsamy z wielowiekową ekspozycją papieru.

Otwartym problemem badawczym jest także możliwość współutleniania nienasyconych kwasów tłuszczowych z utlenionymi hydrolizatami celulozy, szczególnie o strukturze aldehydów, które w tym przypadku mogą być dostarczycielem tlenu, potrzebnego do utworzenia połączeń nadtlennokowych. Rozkład nadtlennoków jest mało selektywny i daje niejednorodne mieszaniny produktów. Tak zróżnicowany jakościowo charakter cechuje ekstrakty z papierów zabytkowych.

Z zawartych w tabeli 4 danych identyfikacyjnych wynika, że obok substancji będących prekursorami przemian, jak kwasy nasycone od C—14 : 0 do C—18 : 0 oraz kwas nienasycony 9—C—18 : 1, w ekstraktach występują substancje lipidowe, które nie zostały zidentyfikowane w klejach zwierzęcych. Są więc produktami przemian substancji pomocniczych w procesie starzenia się papieru zabytkowego. Jest to proces złożony i trudny do zinterpretowania wyłącznie w kategoriach reakcji utleniania. Dane te pozwalają jednak na wyszczególnienie przemian, takich jak:

- dehydratacja łańcucha w nasyconych kwasach tłuszczowych,
- przemieszczanie się wiązań nienasyconych w obrębie łańcucha węglowego kwasu tłuszczowego,
- demetylacja i rozgałęzienie łańcucha węglowego,
- rozerwanie wiązań nienasyconych i utworzenie kwasów mono- i dikarboksylowych, o parzystej i nieparzystej liczbie atomów węgla.

W ekstraktach identyfikowane są kwasy tłuszczowe nienasycone, w których lokalizacja podwójnych wiązań jest zróżnicowana. Przykładem takich przemian jest kwas oleinowy i jego homologi położeniowe. Ponadto występuje szereg



Tabela 4

Kwasy mono- i dikarboksylowe identyfikowane w ekstraktach heksanowych z papierów zabytkowych

Nazwa systematyczna	Nazwa zwyczajowa	Struktura	Tożsamość	
			wzorec	MS
1	2	3	4	5
Pentanowy	walerianowy	C—5 : 0		•
Heptanodikarboksylowy	pimelinowy	C—7	•	•
Heksanowy	kapronowy	C—6 : 0	•	•
Heptanowy	enantowy	C—7 : 0		•
Oktanowy	kaprylowy	C—8 : 0	•	•
Nonanowy	pelargonowy	C—9 : 0		•
4,6-dimetylokaprylowy		C—10 : 0		•
7-metylononanowy		C—10 : 0		•
Dekanowy	kaprynowy	C—10 : 0	•	•
Oktanodikarboksylowy	korkowy	C—8	•	•
9-dodekenowy	oleolaurynowy	9—C—12 : 1 (n—3)	•	
10-metyloundekanowy		C—12 : 0		•
Dodekanowy	laurynowy	C—12 : 0	•	•
Nonanodikarboksylowy	azelainowy	C—9		•
12-metylododekanowy		C—13 : 0		•
Tridekanowy		C—13 : 0		•
Dekadikarboksylowy	sebacynowy	C—10	•	•
9-tetradekenowy	oleomirystynowy	9—C—14 : 1 (n—5)	•	•
12-metylotridekanowy		C—14 : 0		•
Tetradekanowy	mirystynowy	C—14 : 0	•	
12-metylotetradekanowy		C—15 : 0		•
Pentadekanowy		C—15 : 0	•	•
11-heksadekenowy		11—C—16 : 1		•
9-heksadekenowy	oleopalmitynowy	9—C—16 : 1 (n—7)	•	•
7-heksadekenowy		7—C—16 : 1		•
4,8,12-trimetylotridekanowy		C—16 : 0		•
14-metylopentadekanowy		C—16 : 0		•
Heksadekanowy	palmitynowy	C—16 : 0	•	•
15-metyloheksadekanowy		C—17 : 0		•
14-metyloheksadekanowy		C—17 : 0		•
Heptadekanowy		C—17 : 0		•
9,12,15-oktadekatrienowy	linolenowy	9,12,15—C—18 : 3	•	•
12,15-oktadekadienowy		12,15—C—18 : 2		•
9,12-oktadekadienowy	linolowy	9,12—C—18 : 2	•	•
15-oktadekenowy		15—C—18 : 1		•
14-oktadekenowy		14—C—18 : 1		•
13-oktadekenowy		13—C—18 : 1		•
11-oktadekenowy		11—C—18 : 1		•
10-oktadekenowy		10—C—18 : 1		•
9-oktadekenowy	oleinowy	9—C—18 : 1 (n—9)	•	•
6-oktadekenowy		6—C—18 : 1		•
16-metyloheptadekanowy		C—18 : 0		•
15-metyloheptadekanowy		C—18 : 0		•
Oktadekanowy	stearynowy	C—18 : 0		•

1	2	3	4	5
Nonadekanowy	gadoleinowy	C—19 : 0	•	•
Eikosenowy		11—C—20 : 1 (n—9)	•	•
11-metylononadekanowy		C—20 : 0		•
10-metylononadekanowy		C—20 : 0		•
Eikosenowy	arachidowy	C—20 : 0	•	•
Dokosenowy	erukowy	13—C—22 : 1 (n—9)	•	•
Dokosanowy	behenowy	C—22 : 0	•	•
Tetrakosenowy	nerwonowy	15—C—24 : 1 (n—9)	•	•
Tetrakosanowy	lignocerylowy	C—24 : 0	•	•

kwasów nasyconych, o rozgałęzionym łańcuchu węglowym, będącym efektem alkilacji kwasów nienasyconych. Produktami przemian są także niższe kwasy alifatyczne, przede wszystkim kwasy metylenodikarboksylowe. Te ostatnie powstają zarówno w reakcji utleniania kwasów nienasyconych, jak i bez udziału tlenu cząsteczkowego w reakcji pirolizy, z udziałem światła i temperatury.

Na kartach papieru, a zwłaszcza na powierzchni pozbawionej druku oraz na marginesach grafik książkowych, można czasem dostrzec charakterystyczne, drobne, rdzawe plamki. Ten objaw chorobowy nazywany jest foxingiem. Przyczyny tej choroby nie są dostatecznie poznane. W miejscach rdzawych zabarwień nie udało się wyodrębnić szczepów grzybów pleśniowych, co nie pozwoliło potwierdzić hipotezy o mikrobiologicznym pochodzeniu tej choroby. Prawdopodobnie za występowanie plam foxingowych odpowiedzialne są procesy o charakterze fizykochemicznym.

Pojawienie się foxingu interpretować można również na podstawie wolnorodnikowego mechanizmu reakcji. Obecność wolnych rodników zapoczątkowuje reakcję łańcuchową, a elementem generującym wolne rodniki w celulozie mogą być, jako zanieczyszczenia, jony żelaza (II). Reakcja ta jest katalizowana w środowisku kwasowym.



Powstały reaktywny rodnik wodoronadtlenkowy reaguje z cząsteczkową strukturą celulozy, dając aktywny chemicznie rodnik celulozy.



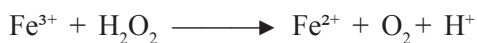
Niezwykłe reaktywny rodnik celulozy reaguje z tlenem z powietrza, w wyniku czego otrzymujemy rodnik nadtlenkowy.



Nadtlenkowy rodnik celulozy reaguje z cząsteczkową strukturą celulozy, dając wodoronadtlenek celulozy i ponownie wolny rodnik celulozy.



Powstały nietrwały wodoronadtlenek, ulegając rozkładowi, może wytworzyć produkty o charakterze alkoholu, eteru, ketonu i kwasu karboksylowego. Wolny rodnik celulozy reaguje z tlenem cząsteczkowym do rodnika nadtlenkowego według opisanego mechanizmu. Tak więc autooksydacja celulozy, której zewnętrznym symptomem są foxingowe zaplamienia, może trwać w nieskończoność. Dodatkowo wytworzony w tych reakcjach nadtlenek wodoru redukuje jony żelaza (III) do katalizujących ten proces jonów żelaza (II).



Kolejną charakterystyczną oznaką przemian zachodzących w papierach zabytkowych jest ich zaplamienie, obejmujące nieraz całą zadrukowaną powierzchnię papieru. Fakt, że zaplamienie to obejmuje wyłącznie część zadrukowaną, świadczy o wzajemnym chemicznym oddziaływaniu między składnikami papieru i farbą drukarską. Farba drukarska była i jest komponentem dwuskładnikowym: obok pigmentu zawiera także pokost, który w procesie druku pełni funkcję czynnika powłokotwórczego. Otrzymuje się go przez ogrzewanie oleju lnianego z sykatywami.

Analiza chromatograficzna współczesnego oleju lnianego na obecność kwasów tłuszczowych wykazała, że jego głównymi składnikami są nienasycone kwasy z dwoma i trzema podwójnymi wiązaniami: linolowy i linolenowy. Łączna ich zawartość dochodzi do 70%. Analiza ekstraktu heksanowego papieru z opisanym defektem potwierdziła ich obecność na poziomie dochodzącym do 30%. Żaden ze stosowanych klejów zwierzęcych nie zawiera tych kwasów na tak wysokim poziomie. Oznacza to, że negatywne zmiany barwy zadrukowanych powierzchni papieru są związane z utratą izolujących druk właściwości powłokotwórczych przez pokost z farby drukarskiej. W jej efekcie kwasy te migrują na powierzchnię papieru, ulegając dalszym przemianom w procesach autooksydacyjnych. Powstałe produkty są przynajmniej częściowo rozpuszczalne w wodzie, o czym świadczy równomierność zaplamienia całej powierzchni druku.

Nie zbadano jeszcze, w jakim stopniu proces ten jest stymulowany przez substancje lipidowe z kleju, które rozmieszczone są równomiernie na całej powierzchni papieru. Przy próbach wyjaśnienia jego mechanizmu należałoby uwzględnić obecność w pokoście tlenków metali zwanych sykatywami, przyspieszających proces schnięcia farby drukarskiej. W tym złożonym układzie kinetycznym sykatywy mogą być dostarczycielami jonów metali, katalizują-

cych przede wszystkim procesy autooksydacji. Nie dziwi, że opisane zjawisko zabarwień całych powierzchni papieru występuje najczęściej na kartach początkowych i końcowych książki, miejscach cechujących się swobodnym dostępem światła, pary wodnej i tlenu z powietrza. Zastosowanie chromatografii gazowej pozwoliło na wykluczenie przyczyn mikrobiologicznych występowania tego defektu.



## Konkluzja

Przedstawiona propozycja badawcza ma na celu zainteresowanie technikami chromatograficznymi konserwatorów obiektów zabytkowych. Techniki te mogłyby służyć jako podstawowe narzędzia badawcze. W przypadku książki zabytkowej, analiza chromatograficzna zawartych w papierze wypełniaczy, zawierających substancje lipidowe, dostarcza nowych informacji na temat materiałoznawstwa konserwatorskiego, aktualnej kondycji papieru. Znajomość mechanizmu starzenia się papieru, wywołanego procesami chemicznymi, zachodzącymi nie tylko w celulozie, lecz także w substancjach pomocniczych, umożliwia podjęcie trafnej decyzji dotyczącej zakresu i metody ingerencji konserwatorskiej.

Badania wykazały, że uciążliwy defekt papieru drukowego, objawiający się brunatnym jego zabarwieniem oraz obniżeniem parametrów wytrzymałości mechanicznej, nie ma charakteru mikrobiologicznego. Ujawnienie fizykochemicznego charakteru tego procesu stwarza szansę na znalezienie skutecznego sposobu na renowację obiektów zabytkowych, których tego typu defekt dotyczy. Wolnorodnikowy charakter procesów naturalnego starzenia się papieru sprawia, że prace konserwatorskie powinny uwzględniać konieczność całkowitej wymiany kleju pochodzenia zwierzęcego na syntetyczny substytut. W przeciwnym razie obraz druku oraz sam papier ulegną całkowitej degradacji. W tej sytuacji propozycja wymiany klejów zwierzęcych na metylocelulozę jest merytorycznie uzasadniona. Także chromatografia gazowa stwarza możliwości badawcze, wykorzystywane przy rekonstrukcji całego bloku książki zabytkowej, nie tylko papieru. Dotyczy to przede wszystkim opraw, w tym pergaminowych, w których procesy utleniające substancje tłuszczowe dają niezwykle złożoną mieszaninę nowych pochodnych lipidowych. Chromatografia gazowa może służyć identyfikacji wszelkich substancji zawartych w preparatach natłuszczających, impregnujących, konserwujących, plastyfikatorów i garbników, które towarzyszyły powstaniu historycznego papieru, druku i książki.



## Bibliografia

- BARAŃSKI A., BEGIN P., ŁAGAN J.M., ŁOJEWSKI T., SAWOSZCZUK T.: *Aplication of Zou, Uesakaand Gurnagul Model to the Degradation of Papers of Various Origins*. "Journal of Pulp and Paper Science" 2006, vol. 32, s. 238—244.
- BARAŃSKI A., DUTKA D., DZIEMBAJ R., KONIECZNA-MOLENDA A., ŁAGAN J.M.: *Effect of Relative Humidity on the Degradation Rate of Cellulose. The Methodology Studies*. „Restaurator” 2004, nr 25, s. 68—74.
- BARAŃSKI A., ŁAGAN J.M., ŁOJEWSKI T.: *The Concept of Mixed-Control Mechanisms and its Applicability to Paper Degradation*. In: *Durability of Paper and Writing*. Ed. J. KOLAR et al. Ljubiana 2004, s. 35—36.
- BULSKA E., WAGNER B.: *Ratujemy zabytkowe rękopisy, czyli badanie procesów degradacji celulozy*. „Analityka” 2000, nr 2, s. 12—15.
- DĄBROWSKI J., SINIARSKA-CZAPLICKA J.: *Rękodzieło papiernicze*. Warszawa 2000, s. 21—29, 119—121.
- DĄBROWSKI J.: *Kwestia trwałości papierów czerpanych na sposób europejski*. „Świat Druku” 2005, nr 3, s. 66—72.
- DUTKA D.: *Degradacja papieru i celulozy tematem sympozjum Europejskiego Stowarzyszenia Badań Materiałowych*. „Przegląd Papierniczy” 2001, nr 12 (688), s. 751.
- FELLERS C., IVERSEN T., LINDSTROM T., NILSSON T., RIGDANL M.: *Ageing. Degradation of Paper. A Literature Survey*. Stockholm 1999, s. 14.
- GURNAGUL N.: *Model to the Degradation of Papers of Various Origins*. "Journal of Pulp and Paper Science" 2003, vol. 19, s. 139.
- HARVEY D.J.: *Mass Spectrometry of Picolinyl and Other Nitrogen-containing Derivatives of Lipid*. "Advances in Lipid Methodology" 1992, vol. 25, s. 19—80.
- KIKAWA Y., NAKAI A.: *Prenatal Diagnosis for Organic Acid Disorders Using Two Mass Spectrometric Methods, Gas Chromatography Mass Spectrometry and Tandem Mass Spectrometry*. "Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications" 2002, vol. 532, s. 387—393.
- ŁOJEWSKA J., LUBAŃSKA A., ŁOJEWSKI T., MIŚKOWIEC P., PRONIEWICZ L.M.: *Kinetic Approach to Degradation of Paper. In Situ FTIR Transmission Studies on Hydrolysis and Oxidation*. „e-Preservation Science” 2005, vol. 2, s. 1—11.



- ŁOJEWSKA J.: „Ageing and stabilisation of paper” pod red. M. Strlič, J. Kolar, *National and University Library, Lubiana 2005* [zapowiedź wydawnicza]. W: „Notes Konserwatorski”. R. 11. Red. B. DREWNIEWSKA-IDZIAK et al. Warszawa 2007, s. 393—394.
- ŁOJEWSKI T., SAWOSZCZUK T., ŁAGAN J.M., ZIĘBA K., BARAŃSKI A., ŁOJEWSKA J.: *Furfural as a Marker of Cellulose Degradation*. “Applied Physics A: Materials Science & Processing” 2010, vol. 100 (3), s. 873—884.
- MATUSSEK H.: *Can Regulations Induce Environmental Innovations. An Analysis of the Role of Regulations in the Pulp and Paper Industry in Selected Industrialized Countries*. “Annual Reviews” 1996, vol. 38, s. 22.
- MISKOWIEC P., ŁOJEWSKA J., LUBAŃSKA H., PRONIEWICZ L.M.: *Badania spektroskopowe mechanizmów degradacji papieru*. W: *Na pograniczu chemii i biologii*. T. 13. Red. H. KORONIAK, J. BARCISZEWSKI. Poznań 2005, s. 55—62.
- ROBERTSON A.A.: *Specific Surface of Cellulose Fibers by the Liquid Permeability Method*. “Pulp and Paper Magazine of Canada” 1999, vol. 65, s. 171.
- ROLLINS M. VAN, NOOT V.A. VAN DER: *Targeted Quantitative Analysis of Eicosanoid Lipids in Biological Samples Using Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry*. “Analytical Biochemistry” 2003, vol. 313, s. 106.
- ROSA H.: *Charakterystyka papierów w książkach z XIX i początku XX*. W: „Notes Konserwatorski”. R. 11. Red. B. DREWNIEWSKA-IDZIAK et al. Warszawa 2007, s. 229—254.
- SOBUCKI W., CZAJKA A.: *Stan zachowania archiwaliów z XIX i XX wieku*. W: *Stan zachowania polskich zbiorów bibliotecznych i archiwalnych z XIX i XX wieku*. Red. B. DREWNIEWSKA-IDZIAK. Warszawa 2006, s. 7—22.
- SOBUCKI W.: *Wybrane problemy ochrony zbiorów bibliotecznych*. W: „Notes Konserwatorski”. Red. B. DREWNIEWSKA-IDZIAK et al. Warszawa 2000, s. 34—55.
- STRZELCZYK A.B., KARBOWSKA J.: *Mikrobiologiczny rozkład zabytkowych pergaminów*. „Postępy Mikrobiologii” 2003, nr 32, s. 19.
- STRZELCZYK A.B., KARBOWSKA J.: *The Role of Microorganisms in the Decay of Parchment*. “Acta Microbiologica” 2000, vol. 43, s. 165—174.
- STRZELCZYK A.B., KUROCZKIN J., KRUMBEIN W.E.: *Observations on Aesthetic and Structural Changes Induced in Polish Historic Objects by Microorganisms*. “International Biodegradation” 1999, vol. 23, s. 67.
- STRZELCZYK A.B., KUROCZKIN J., KRUMBEIN W.E.: *Studies on the Microbial Degradation of Ancient Leather Bookbindings*. “International Biodegradation” 2000, vol. 25, s. 39.
- STRZELCZYK A.B., ZYKUBEK K.: *Ocena zniszczeń mechanicznych, fizykochemicznych i mikrobiologicznych zbiorów z lat 1800—1914 przechowywanych w czterech polskich placówkach bibliotecznych i archiwalnych*. W: „Notes Konserwatorski”. R. 11. Red. B. DREWNIEWSKA-IDZIAK et al. Warszawa 2007, s. 160—180.
- URAN S., LARSEN A.: *Analysis of Phospholipid Species in Human Blood Using Normal-phase Liquid Chromatography Coupled with Electrospray Ionization Ion-trap Tandem mass Spectrometry*. “Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications” 2001, vol. 758, s. 265—275.
- WAGNER B., BULSKA E.: *Zastosowanie nowoczesnych metod instrumentalnych w badaniach zabytków rękopiśmiennych*. W: „Notes Konserwatorski”. R. 5. Red. B. DREWNIEWSKA-IDZIAK et al. Warszawa 2001, s. 68—77.

## Wykaz fotografii, rysunków, tabel, wykresów

Fot. 1. Urządzenia i narzędzia do produkcji papieru czerpanego (Muzeum Papiernictwa w Dusznikach-Zdroju).

Fot. 2. Holender (Muzeum Papiernictwa w Dusznikach-Zdroju).

Rys. 1. Chromatograficzny rozdział składników z surowego ekstraktu heksanowego papieru inkunabułowego (Norymberga 1479).

Rys. 2. Chromatograficzny rozdział składników z ekstraktu heksanowego papieru inkunabułowego po oczyszczeniu techniką SPE.

Rys. 3. Chromatograficzny rozdział składników z oleju słonecznikowego (15—24 min).

Rys. 4. Chromatograficzny rozdział składników z oleju słonecznikowego (24—29 min).

Rys. 5. Chromatograficzny rozdział składników z oleju słonecznikowego (29—40 min).

Rys. 6. Widmo masowe estru dimetylowego kwasu azelainowego.

Rys. 7. Widmo masowe estru metylowego kwasu kaprynowego.

Rys. 8. Widmo masowe estru metylowego kwasu mirystynowego C—14 : 0.

Rys. 9. Widmo masowe estru metylowego kwasu palmitynowego C—16 : 0.

Rys. 10. Widmo masowe estru metylowego kwasu 14-metylopentadekanowego.

Rys. 11. Widmo masowe estru metylowego kwasu 4,6-dimetylokaprylowego.

Rys. 12. Widmo masowe estru metylowego kwasu 4,8,12-trimetylolaurynowego.

Rys. 13. Widmo masowe estru metylowego kwasu tridekanowego C—13 : 0.

Rys. 14. Widmo masowe estru metylowego kwasu pentadekanowego C—15 : 0.

Rys. 15. Widmo masowe estru metylowego kwasu oleinowego C—18 : 1.

Rys. 16. Widmo masowe hydroksylowej pochodnej kwasu tłuszczowego C—18 : 1.

Rys. 17. Chromatogram z rozdziału kwasów tłuszczowych zawartych w kleju pergaminowym.

Rys. 18. Chromatogram z rozdziału kwasów tłuszczowych zawartych w kleju skórnym.

Rys. 19. Chromatogram z rozdziału kwasów tłuszczowych zawartych w kleju rybim.

- Rys. 20. Chromatogram z rozdziału kwasów tłuszczowych z papieru południowego — Wenecja 1490.
- Rys. 21. Chromatogram z rozdziału kwasów tłuszczowych z papieru północnego — Strasburg 1483.
- Rys. 22. Chromatogram z rozdziału kwasów tłuszczowych z papieru północnego — Antwerpia 1640.
- Rys. 23. Chromatogram z rozdziału kwasów tłuszczowych z papieru północnego — Kolonia 1682.

Tabela 1. Zawartość kwasów tłuszczowych w ekstraktach heksanowych z klejów zwierzęcych po oczyszczeniu techniką SPE (w %).

Tabela 2. Zawartość kwasów tłuszczowych w ekstraktach heksanowych z papierów inkunabułowych po oczyszczeniu techniką SPE (w %).

Tabela 3. Zawartość kwasów tłuszczowych w ekstraktach heksanowych papierów z XVII wieku po oczyszczeniu techniką SPE (w %).

Tabela 4. Kwasy mono- i dikarboksylowe identyfikowane w ekstraktach heksanowych z papierów zabytkowych.

Wykres 1. Profil nasyconych kwasów tłuszczowych w ekstraktach heksanowych z klejów zwierzęcych po oczyszczeniu techniką SPE.

Wykres 2. Profil nasyconych kwasów tłuszczowych w ekstraktach heksanowych z papierów inkunabułowych północnych i południowych po oczyszczeniu techniką SPE.

Wykres 3. Profil nasyconych kwasów tłuszczowych w ekstraktach heksanowych z kleju pergaminowego i papieru południowego po oczyszczeniu techniką SPE.

Wykres 4. Profil nasyconych kwasów tłuszczowych w ekstraktach heksanowych z kleju skórniego i papieru północnego po oczyszczeniu techniką SPE.

Wykres 5. Profil kwasów tłuszczowych w ekstraktach heksanowych z kleju rybiego i wybranych papierów z XVII wieku po oczyszczeniu techniką SPE.

Agnieszka Bakalarz

## Chromatography in the study of historic books

### Summary

Paper is a basic writing material that has not been so far supplanted by the consecutive technical and technological inventions. During the centuries of paper-making, systematic changes took place, the aims of which were: improvement of paper's quality, lowering the price and increase in the production. The present-day process of paper-making hardly resembles a few hundred years old historical production process of handmade paper. Unfortunately, as it turns out, the quality of contemporary paper has also been compromised in comparison to durable work of the old paper-making masters.

All chemical reactions involving cellulose, the main active constituent of paper, are occurring with the participation of this polysaccharide's glucose radicals. Cellulose depolymerisation, as well as its further chemical decomposition, is most of all a result of hydrolysis, oxidation, or enzymatic action of microorganisms. The course of the hydrolysis is complex and occurs gradually: from cellulose to the end product which is glucose. However, the oxidation process causes the transformation of hydroxyl groups in cellulose into aldehyde groups, ketone groups and carboxylate groups.

In case of metal ions, for example those coming from printing or handwriting ink, both the above-mentioned processes may occur simultaneously. Hydrogen ions catalyze the hydrolysis and metal ions catalyze the self-oxidation. Those processes allowed to form a thesis concerning the irreversible destruction of paper cellulose, which is catalyzed in the acidic environment. They cause the loss of paper's mechanical durability, and thereby the irretrievable decay of handwritten and printed documents.

Still, the unexamined issue remains the influence of ingredients contained in the auxiliary substances of paper on the mechanism and reaction kinetics of the paper ageing process. That is the source of interest in adhesives used in manufacturing process of the historic printing paper. Up until now, the decay of adhesives that accompanies the paper ageing process has not been taken into account. By the same token, the synergistic interaction of both the processes is not a widely-known fact.

The conservation of historic books requires the basic knowledge of physico-chemical and mechanical condition characterizing the material they are built of. The development of instrumental — in particular chromatographic — analytical techniques creates a possibility to carry out research the results of which can be applied in book

conservation practice. The examination of antique books must not lead to damaging thereof. After examination, a restored material should be again included in a library collection. It seems that chromatographic techniques comply with the above-mentioned requirements. They can be successfully utilized in so-called conservation materials science. The presented work is an attempt to include chromatography into the conservation practice of antique library material.

Gas chromatography has rapidly become a dominant method in qualitative and quantitative research. However, it requires transforming fatty acids into volatile aliphatic esters which, in turn, have numerous advantages. They are non-polar and produce sharp, well-shaped peaks. By using mass spectrometer, it becomes possible to measure their molecular mass as well as the degree to which the acyl radicals are unsaturated.

The primary aim of this work was to device selected chromatographic techniques for marking natural components of adhesives contained in antique library material as well as in the products of their transformation that constitute another element of their natural ageing process. The data thus obtained should allow to elaborate the bases of the mechanism of this process and its influence on structural and mechanical parameters of antique library material. Such a knowledge will facilitate deciding on the scope of the conservator's interference and the selection of the right materials or their contemporary natural substitutes.

The division of methyl esters was performed using the capillary columns of a gas chromatograph with the flame ionization detector (FID) and with the mass spectrometer (MS). The mass spectrometer was equipped with the EI ion source that has the maximal ionization energy of 70 eV. It worked in the full-scan mode, monitoring the mass from 50 to 480 amu.

Another so far unexamined problem is the mechanism of the natural paper ageing process in the area of auxiliary substances which include animal glue applied by historical paper makers. Also in this case we deal with oxidation of elements of adhesives, especially the unsaturated ones. Here, there have to be included all the lipid structures created by unsaturated fatty acids. In animal glues, however, the unsaturated lipid substances are dominant, and that is why free radical oxidation reaction is not dominant. This fact is indirectly confirmed by the identity analysis of products contained in hexane extractions from antique papers. Oxygen-containing derivatives of fatty acids were identified incidentally, depending on the applied animal glue and the contents of the oleic acid.

The considerable contents of the products of transformation of the lower aliphatic acids' and dicarboxylic acids' auxiliary substances suggests that oxidation of unsaturated acids and the hydrolysis of epoxy connections are not the only sources of their origin. The similar result can be achieved with the oxygen during pyrolysis occurring as the effect of light and temperature. A specific parameter of all the chemical reactions taking place in the material under examination is also the reaction time, identical with centuries-old exposure of paper.

Another open research problem is the possibility of co-oxidation of the unsaturated fatty acids with the oxidized cellulosic hydrolysates, particularly with the structure of aldehyde, which in this case can be a supplier of oxygen for creating peroxide connections. The disintegration of peroxides is not very selective and it

yields diversified mixtures of products. In this way, the extractions of antique papers display their qualitatively diversified character.

It is hard to estimate to what extent this process is stimulated by the lipid substances from glue that are evenly distributed on the entire surface of paper. Explaining its mechanism, one should take into account the presence of metallic oxide called siccative (which is a drying agent for the printing ink) in the linseed oil. In this diversified kinetic environment the siccative can serve as supplier of metal ions mainly catalyzing self-oxidation. Unsurprisingly, the phenomenon of colourings of the entire surfaces most often occurs on the books' initial and final pages, since those places are easily accessed by light, water vapor and oxygen from air. The application of gas chromatography allowed to exclude microbiological causes for the occurrence of this defect.



Agnieszka Bakalarz

## Die Anwendung der Chromatographie für Untersuchung des antiken Buches

### Zusammenfassung

Papier ist die wichtigste Schreibware, die bisher durch andere technische und technologische Erfindungen noch nicht ersetzt werden konnte. Im Lauf der Jahrhunderte war der Prozess der Papierherstellung mehreren Veränderungen unterworfen, welche bessere Qualität des Papiers, dessen niedrigeren Preis und eine Produktionsvergrößerung bezweckten. Gegenwärtiger Produktionsprozess ruft die historische Technologie des Büttenpapiers von vor einigen Jahrhunderten ansatzweise in Erinnerung. Bedauerlicherweise weicht auch die Qualität des heutigen Papiers sehr von sehr robustem Erzeugnis der früheren Meister — Papierhersteller ab.

Alle chemischen Reaktionen, an denen der Hauptbestandteil des Papiers — Zellulose teilnimmt, verlaufen mit Beteiligung von Glukoseresten des Polysacharides. Die Depolymerisation der Zellulose und deren weiterer Zerfall erfolgen vor allem infolge der Hydrolise, der Oxidation oder der enzymatischen Wirkung von Mikroorganismen. Die Hydrolise ist ein komplexer und allmählicher Prozess, dessen Endprodukt Glukose ist. Die Oxidation dagegen führt zur Umwandlung der Hydroxylgruppen von der Zellulose in Aldehyd-, Keton- und Carboxygruppen.

Bei den beispielsweise aus Druckfarbe, Tusche oder Tinte kommenden Metallionen können die beiden Prozesse zur gleichen Zeit verlaufen. Die Wasserstoffionen katalysieren die Hydrolise und die Metallionen — die Autooxidation. Dank den Prozessen konnte man die These aufstellen, dass die im Papier enthaltene und in einer sauren Umgebung katalysierte Zellulose irreversibel zersetzt wird. Diese Prozesse verursachen, dass das Papier seine mechanische Festigkeit verliert, und dass handschriftliche und gedruckte Objekte vernichtet werden.

Es bleibt immer noch unerforscht, auf welche Weise die in Hilfsstoffen des Papiers enthaltenen Bestandteile, den Mechanismus und die Kinetik des Papieralterungsprozesses beeinflussen. Daher das Interesse an die in der Technologie des historischen Druckpapiers benutzten Klebstoffe. Die mit der Papieralterung einhergehende Degradation der Klebstoffe wurde bisher noch nicht in Rücksicht genommen. Es fehlen auch Informationen über synergistische Auswirkung der beiden Prozesse.

Konservatorische Arbeiten am antiken Buch erfordern ein Grundwissen aus dem Bereich der physikochemischen und mechanischen Eigenschaften des Rohmaterials, aus dem das Buch gemacht worden ist. Die Entwicklung von instrumentalen analy-



tischen Methoden, insbesondere der Chromatografie, lässt, die der konservatorischen Praxis dienenden Forschungen durchführen. Die Untersuchung der Bibliotheksammlungen darf nicht zu deren Vernichtung führen. Das untersuchte Material soll nach der Regeneration an das restaurierte Objekt wieder angeschlossen werden. Den Anforderungen scheinen chromatographische Methoden zu entsprechen, die mit Erfolg bei den Untersuchungen auf dem Gebiet der sog. konservatorischen Werkstoffkunde angewandt werden können. Die vorliegende Abhandlung ist ein Versuch, die Chromatographie in die konservatorische Praxis der Erhaltung von antiken schriftstellerischen Objekten umzusetzen.

In qualitativen und quantitativen Forschungen wurde die Gaschromatografie innerhalb kurzer Zeit zu vorherrschender Forschungsmethode. Dabei müssen die Fettsäure in flüchtige aliphatische Ester umgewandelt werden, welche eine ganze Reihe Vorteile haben. Ester sind unpolar und geben scharfe, gut ausgebildete Peaks. Bei der Kopplung mit einem Massenspektrometer können ihr Molekulargewicht und der Ungesättigtheitsgrad ihrer Acylresten beurteilt werden.

Das Hauptziel der Abhandlung war, mit Hilfe ausgewählter chromatographischer Methoden natürliche Bestandteile der Klebstoffe und Produkte deren Umwandlung, als weitere Elemente der natürlichen Papieralterung aus antiken Büchern zu bestimmen. Erreichte Daten sollten bei Erforschung der Grundlagen des Prozesses und dessen Einflusses auf strukturelle und mechanische Parameter des antiken Buches behilflich sein. Auf dem Grund wird es leichter, über den Bereich des konservatorischen Eingriffs und über die Auswahl von richtigen Stoffen oder deren neutralen Substituten zu entscheiden.

Die Methylester wurden in Kapillartrennsäulen mit Hilfe des Gaschromatographs mit einem Flammenionisationsdetektor (FID) und einem massenselektiven Detektor (MS) verteilt. Der Massendetektor besaß eine IE-Ionenquelle mit maximaler Ionisationsenergie von 70 eV. Er sammelt volles Spektrum *full scan*, indem er die Gewichte von 50 bis 480 j.m.a. absondert.

Es ist bisher noch nicht untersucht worden, auf welche Weise der Alterungsprozess von den im Papier enthaltenen Hilfsstoffen (die von alten Papierherstellern angewandten Tierklebstoffe) verläuft. In dem Fall haben wir auch mit der Oxidation von den, vor allem ungesättigten, Klebstoffbestandteilen zu tun. Es sind besonders alle Lipidstrukturen, an deren Bildung ungesättigte Fettsäure teilnehmen. In Tierklebstoffen überwiegen aber gesättigte Lipidstoffe, so dass die Oxydation von freien Radikalen nicht vorherrschend ist. Das wird auch durch die Analyse der in Hexanextrakten aus dem antiken Papier enthaltenen Produkte bestätigt. Die Sauerstoffderivate der Fettsäuren wurden nur beiläufig und in Abhängigkeit von der Art des angewandten Klebstoffes und dem Gehalt der Oleinsäure identifiziert.

Beträchtliches Gehalt von niedrigeren aliphatischen Säuren und Dicarboxysäuren in den Produkten der Umwandlung von Hilfsstoffen lässt feststellen, dass die Oxidation von ungesättigten Säuren und die Hydrolise der entstandenen Epoxidverbindungen nicht die einzige Quelle deren Herkunft ist. Ähnlicher Ergebnis ist auch ohne Sauerstoff infolge einer Pyrolyse (unter dem Einfluss von Licht und Temperatur) zu erzielen. Das spezifische Parameter jeder in dem untersuchten Papierstoff verlaufenden, chemischen Umwandlung ist auch die, der jahrhundertealten Exposition des Papiers entsprechende Reaktionszeit.

Eine offene Forschungsfrage ist auch die Möglichkeit der gleichzeitigen Oxidation von ungesättigten Fettsäuren und oxidierten Hydrolysaten der Zellulose, besonders den mit Aldehydstruktur, die in dem Fall den Sauerstoff zur Bildung der Superoxidverbindungen liefern können. Der Zerfall von Superoxiden ist wenig selektiv und gibt differenzierte Produktmischungen. Die Extrakte aus antikem Papier haben auch einen qualitativ differenzierten Charakter.

Es ist schwer zu beurteilen, inwieweit der Prozess durch die im Klebstoff enthaltenen und gleichmäßig auf der ganzen Papierfläche verteilten Lipidstoffen stimuliert wird. Versucht man den Mechanismus zu klären, muss man die sich in dem Firnis befindenden Metalloxide (Sikkative genannt) in Rücksicht nehmen, die die Trocknung der Druckfarbe beschleunigen. In dem komplizierten kinetischen System sind die Sikkative im Stande, die den Selbstoxidationsprozess katalysierenden Metallionen zu liefern. Kein Wunder, dass die oben geschilderte Erscheinung, ganze Papierflächen zu färben, meistens auf Anfangs- und Endseiten des Buches vorkommt, wo Licht, Wasserdampf und Luftsauerstoff leicht durchdringen können. Dank der Chromatographie war es möglich, mikrobiologische Ursachen der Verfärbungsdefektes auszuschließen.

Redaktor Aleksandra Gaździcka  
Projektant okładki Magdalena Starzyk  
Redaktor techniczny Barbara Arenhövel  
Korektor Luiza Przełożny  
Łamanie Edward Wilk

Copyright © 2013 by  
Wydawnictwo Uniwersytetu Śląskiego  
Wszelkie prawa zastrzeżone

**ISSN 0208-6336**  
**ISBN 978-83-226-2227-8**

Wydawca  
**Wydawnictwo Uniwersytetu Śląskiego**  
**ul. Bankowa 12B, 40-007 Katowice**  
[www.wydawnictwo.us.edu.pl](http://www.wydawnictwo.us.edu.pl)  
e-mail: [wydawus@us.edu.pl](mailto:wydawus@us.edu.pl)

---

Wydanie I. Ark. druk. 5,0. Ark. wyd. 5,0.  
Papier offset, kl. III, 100 g      Cena 14 zł (+ VAT)

---

Druk i oprawa: PPHU TOTEM s.c.  
M. Rejnowski, J. Zamiara  
ul. Jacewska 89, 88-100 Inowrocław



Więcej o książce



Cena 14 zł (+ VAT)

ISSN 0208-6336  
ISBN 978-83-226-2227-8